



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
SECRETARÍA DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**VARIANTES ALÉLICAS DE FPGS, GGH Y ABCB1 ASOCIADAS AL  
DESARROLLO DE RECAÍDA Y MUCOSITIS EN PACIENTES  
PEDIÁTRICOS DEL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA CON  
DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.**

**PROTOCOLO DE TÉSIS**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**ESPECIALISTA EN PEDIATRÍA**

PRESENTA:

**DRA. GERALDINE QUINTO MORALES.**

TUTOR:

**DR. MARTÍN PÉREZ GARCÍA**

COTUTOR:

**DR. JUAN LUIS CHÁVEZ PACHECO**



CIUDAD DE MÉXICO

2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**VARIANTES ALÉLICAS DE FPGS, GGH Y ABCB1 ASOCIADAS AL  
DESARROLLO DE RECAÍDA Y MUCOSITIS EN PACIENTES  
PEDIÁTRICOS DEL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA CON  
DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.**



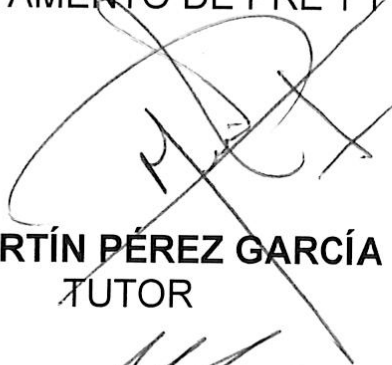
**DR. ALEJANDRO SERRANO SIERRA**  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE  
ESPECIALIZACIÓN EN PEDIATRÍA



**DR. JOSÉ N. REYNES MANZUR**  
DIRECTOR DE ENSEÑANZA



**DR. MANUEL ENRIQUE FLORES LANDERO**  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO



**DR. MARTÍN PÉREZ GARCÍA**  
TUTOR



**DR. JUAN LUIS CHÁVEZ PACHECO**  
COTUTOR

# ÍNDICE

1. Antecedentes	1
1.1 Epidemiología.	1
1.2 Definición de Leucemia.	5
1.3 Clasificación.	5
1.4 Etiología.	5
1.5 Factores pronósticos.	6
1.6 Tratamiento.	7
1.7 Metotrexato.	8
1.7.1 Mecanismo de acción.	9
1.7.2 Farmacogenética de metotrexato.	10
1.8 Definición de efectos adversos.	17
1.8.1 Mucositis.	17
1.9 Recaída.	18
1.9.1 Definición.	18
1.9.2 Factores de riesgo para recaída.	19
2. Planteamiento del problema.	19
3. Justificación	19
4. Objetivos.	20
5. Clasificación de la investigación.	20
6. Material y métodos.	20
7. Definición de variables	21
8. Resultados.	22
9. Discusión	35
10. Conclusiones.	38
11. Perspectivas.	38
12. Referencias.	39

# VARIANTES ALELICAS FPGS, GGH Y ABCB1 ASOCIADAS AL DESARROLLO DE RECAÍDA Y MUCOSITIS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS DEL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA CON DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.

Geraldine Quinto Morales <sup>1</sup>. Juan Luis Chávez Pacheco <sup>2</sup> Martin Pérez García <sup>3</sup>

1. Residente de Tercer de año de Pediatría. 2. Jefe de Departamento de Farmacología, Torre de Investigación INP. 3. Médico adscrito a la Unidad de Trasplante de Células Hematopoyéticas, INP.

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1. Epidemiología.

El cáncer en la población pediátrica representa un problema de salud pública en la República Mexicana, cuya incidencia se ha elevado como consecuencia del cambio epidemiológico secundario a una disminución en la prevalencia de enfermedades infectocontagiosas como resultado de las campañas de vacunación y educación en salud, y a un aumento en la presencia de enfermedades crónico-degenerativas. En la actualidad se reporta una prevalencia aproximada para la enfermedad de este grupo de edad es de 18,000 casos anuales.

Dentro de los diferentes tipos de cáncer infantil la leucemia es el más común (Tabla 1)<sup>1</sup>, en México se ha reportado una de las mayores tasas de incidencia de América Latina, la Ciudad de México tiene una de las tasas más altas reportadas a nivel internacional. De los diferentes tipos de leucemia, la leucemia linfoblástica aguda representa el 75- 80 % de todos los casos.

**Tabla 1. Tasas de prevalencia e incidencia en niños con \*cáncer del Seguro Popular 2007-2012.**

Diagnóstico	Prevalencia Casos n (%) Año 2007	Prevalencia Casos n (%) Año 2008	Prevalencia Casos n (%) Año 2009	Prevalencia Casos n (%) Año 2010	Prevalencia Casos n (%) Año 2011	Prevalencia Casos n (%) Año 2012	Incidencia Año 2012 Total: 156.9
Leucemias	1,056 (52.4)	1,122 (50.3)	1,133 (49.5)	1,204 (50.1)	1,222 (47.5)	1,329 (49.7)	78.1
Linfomas	207 (10.3)	206 (9.2)	244 (10.7)	247 (10.3)	255 (9.9)	258 (9.6)	15.1
Neoplasias intracraneales	188 (9.3)	198 (8.9)	198 (8.7)	228 (9.5)	254 (9.9)	277 (10.3)	16.2
Tumores de células germinales	53 (2.6)	91 (4.1)	118 (5.2)	146 (6.1)	153 (6.0)	152 (5.6)	8.9
Sarcoma de partes blandas	108 (5.4)	110 (4.9)	95 (4.2)	79 (3.3)	120 (4.7)	112 (4.1)	6.5
Osteosarcoma	92 (4.6)	104 (4.7)	126 (5.5)	74 (3.1)	94 (3.7)	77 (2.8)	4.5
Retinoblastoma	75 (3.7)	97 (4.4)	70 (3.1)	93 (3.9)	104 (4.0)	100 (3.7)	5.8
Tumores renales	80 (4.0)	84 (3.8)	67 (2.9)	89 (3.7)	80 (3.1)	87 (3.2)	5.1
Neoplasias reticulares misceláneas	40 (2.0)	47 (2.1)	58 (2.5)	63 (2.6)	79 (3.1)	95 (3.5)	5.5
Tumores hepáticos	30 (1.5)	44 (2.0)	35 (1.5)	51 (2.1)	67 (2.6)	48 (1.7)	2.8
Neuroblastoma	39 (1.9)	46 (2.1)	54 (2.4)	38 (1.6)	51 (2.0)	46 (1.7)	2.7
Tumor de Ewing y sarcomas de hueso	17 (0.8)	31 (1.4)	35 (1.5)	47 (2.0)	38 (1.5)	24 (0.8)	1.4
Otros tumores sólidos	32 (1.6)	49 (2.2)	54 (2.4)	44 (1.8)	54 (2.1)	66 (2.4)	3.8
Total de casos (n)	2,017	2,229	2,287	2,403	2,571	2,671	14,178

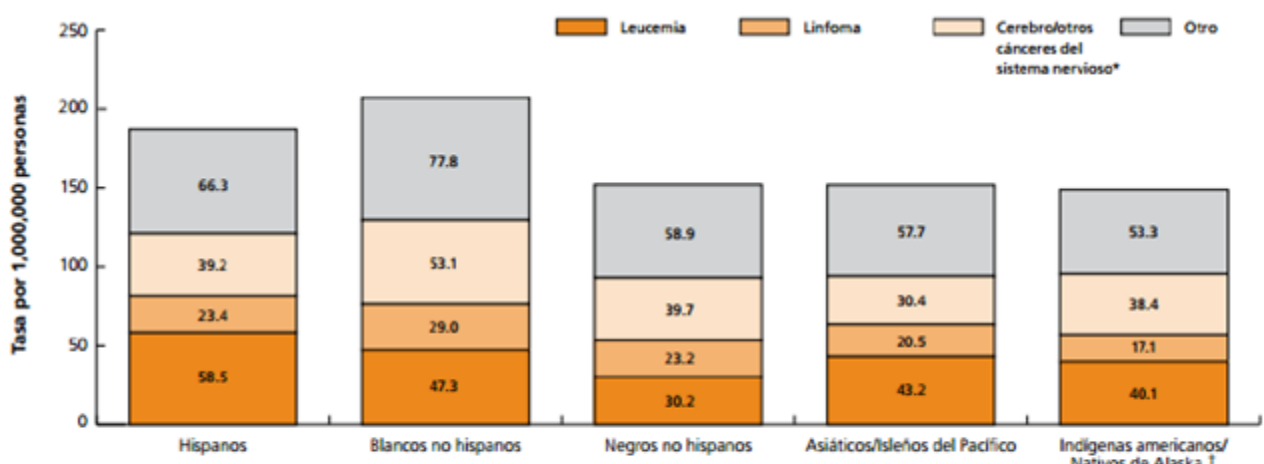
\*Clasificación Internacional de Cáncer Infantil (ICCC-3).<sup>4</sup>

**Tabla 2. Prevalencia de leucemias en población de 0 a 18 años de 2007 a 2012.**

Tipo de leucemia	0-4 n (%)	5-9 n (%)	10-14 n (%)	15-18 n (%)	Total n (%)
Leucemia aguda linfoblástica	2,346 (40)	2,170 (37)	762 (13)	586 (10)	5,864 (83)
Leucemia aguda mieloblástica	278 (30)	195 (21)	185 (20)	269 (29)	927 (13.1)
Leucemia mielocítica crónica	45 (23)	54 (27)	55 (28)	44 (22)	198 (2.8)
Síndromes mielodisplásicos	8 (10)	22 (28)	24 (32)	23 (30)	77 (1.0)
Número total	2,677	2,441	1,026	922	7,066

Dentro de los pacientes afectados, el pico de incidencia se encuentra entre los 0-4 años de edad (Tabla 2).<sup>1</sup>

El último reporte de la American Cancer Society de datos y estadísticas sobre el cáncer en Hispanos /Latinos (2015-2017) presenta a la leucemia como el cáncer de mayor frecuencia en la comunidad hispana, seguido del cáncer de cerebro/sistema nervioso central y el linfoma<sup>2</sup>. Asimismo se describe que los niños y los adolescentes hispanos tienen tasas de leucemia más altas que las de otros grupos raciales y étnicos en EE. UU., casi duplicando las de los niños negros no hispanos que tienen las tasas más bajas.



Estas tasas se ajustaron por edades a la población estándar de EE.UU. en 2000. Las personas de origen hispano/latino pueden ser de cualquier raza. \*Incluye tumores de cerebro benignos y de comportamiento incierto. †Los datos se basan en las áreas de suministro de servicios de salud por contrato del Servicio de Salud para Indígenas (Indian Health Service). Las tasas de incidencia excluyen datos de Kansas.

Fuente: Asociación Norteamericana de Registros Centrales de Cáncer, 2015.

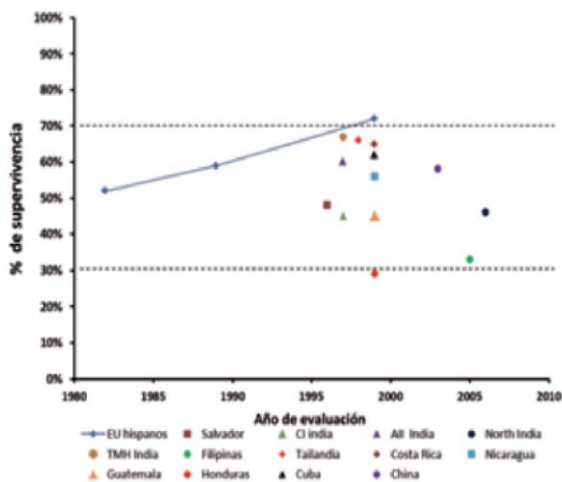
American Cancer Society Inc., Investigaciones de Vigilancia, 2015.

**Gráfica 1. Comparación entre las tasas de incidencia de cánceres comunes en la infancia y la adolescencia por raza/grupo étnico, de 0 a 19 años, de 2008-2012.**

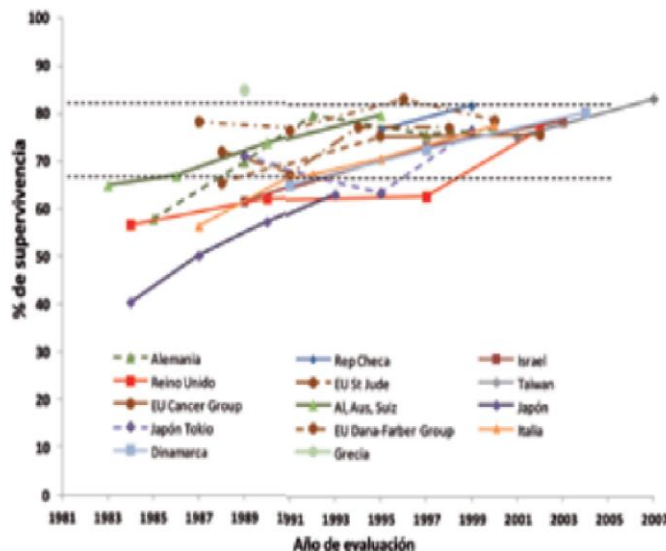
Asimismo el cáncer infantil es la segunda causa principal de mortalidad entre los niños hispanos y los niños blancos no hispanos de 1 a 14 años de edad, después de los accidentes. En cuanto a la tasa de supervivencia, se reporta una mejoría significativa, sin embargo, como en las variables anteriores los pacientes hispanos presentan una supervivencia menor que los blancos no hispanos<sup>2</sup>.

Tanto la mortalidad y la supervivencia son variables sujetas a la influencia de múltiples factores, ya sea genéticos, que expliquen la menor supervivencia e incidencia en casos de leucemia en pacientes hispanos, como ambientales, entre los cuales intervienen el acceso al sistema de Salud, los ingresos familiares, la disponibilidad de recursos para el diagnóstico y el tratamiento; variables que a través de la cobertura de Gastos Catastróficos del Seguro Popular, se intentan controlar, con el fin de mejorar el diagnóstico y tratamiento de los pacientes. Existe una diferencia significativa en cuanto a las tasas de supervivencia cuando se comparan pacientes de países en desarrollo y países desarrollados, estos últimos han implementado estrategias que permiten un diagnóstico más oportuno tanto de la enfermedad así como de la recaída y tratamiento en base a los factores de riesgo para recaída.

Mientras que países como Alemania, EUA, Dinamarca presentan tasas de supervivencia global 70-85 % con aumento del 15 % en los últimos 5 años, naciones como Honduras, Guatemala o Costa Rica presentan tasas tan bajas de hasta el 29 %. Si bien los protocolos de tratamiento en ocasiones se basan en estudios multicéntricos internacionales, la falta de infraestructura y red de apoyo origina cambios en los propios esquemas de tratamiento en busca de adaptarse a los recursos disponibles en cada país, en incluso en cada hospital. En México, de acuerdo con los registros del Centro Nacional para la Salud de la Infancia y la Adolescencia (CeNSIA), la supervivencia global estimada a 5 años para todos los tipos de cáncer en menores de edad, en Unidades Médicas Acreditadas (UMA) para la atención de esta enfermedad, es del 56%.<sup>3</sup>



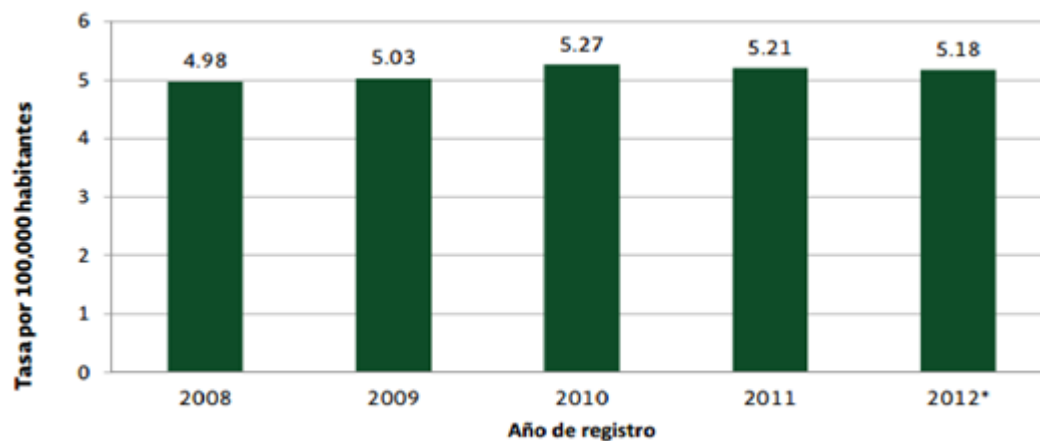
\*Guatemala, Honduras, Cuba, Costa Rica y Nicaragua incluyeron linfomas.



**Grafica 2. Supervivencia global a cinco años en pacientes pediátricos con LLA en países en vías de desarrollo, según país y año de protocolo evaluado (n = 4,514 pacientes).<sup>3</sup>**

Otro factor que influye en la supervivencia es la etapa a la cual se diagnostica la enfermedad, aproximadamente el 75% de los casos en el país son diagnosticados en etapas avanzadas de la enfermedad, lo que implica una menor posibilidad de sobrevivir, así como un tiempo más prolongado de atención y tratamientos más sofisticados y menos eficaces.

De acuerdo a datos obtenidos del Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS) así como el del Sistema Estadístico Epidemiológico de las Defunciones (SEED), cada año mueren alrededor de 2,000 menores por esta enfermedad en México. A nivel global, la mortalidad ha presentado una disminución, secundario al uso de nuevas tecnologías, contrario a lo presentado en nuestro país<sup>4</sup>.



**Grafica 3. Tasa de mortalidad por cáncer en menores de 18 años. Población general a nivel Nacional 2008-2012.**<sup>4</sup>

Por otro lado, en cuanto a la sobrevivencia, es importante investigar si esta diferencia entre países en vías de desarrollo y desarrollados radica en factores ambientales, genéticos o relacionados a las propias particularidades de cada neoplasia, de las características del paciente (edad, estado nutricional) del apego al tratamiento y el tipo de institución donde es tratado el paciente.

Recientemente se realizó un estudio en el cual el objetivo fue relacionar la sobrevivencia de los pacientes de acuerdo a la estructura hospitalaria, se trató de un estudio transversal analítico en nueve hospitales con distintas tasas de supervivencia, en los cuales se evaluó dicha estructura de acuerdo a estándares nacionales e internacionales. Entre los factores relacionados a mejor sobrevivencia se encontró la presencia de residentes de oncología/hematología pediátrica ( $r = 0.543$ ,  $p = 0.001$ ), contar con cuartos aislados ( $r = 0.455$ ,  $p = 0.008$ ), tomógrafo ( $r = 0.454$ ,  $p = 0.008$ ), el número de pacientes que atienden los médicos o enfermeras por jornada laboral ( $r = 0.443$ ,  $p = 0.021$ ), los médicos adscritos a oncología/hematología ( $r = 0.399$ ,  $p = 0.021$ ), infectólogo pediatra ( $r = 0.385$ ,  $p = 0.027$ ) y cirujano pediatra ( $r = 0.378$ ,  $p = 0.030$ ).<sup>5</sup>

Las deficiencias que con mayor frecuencia se detectaron fue la falta de disponibilidad (ya sea por no contar con el recurso o no asegurar su obtención) de recursos para el diagnóstico (tinción, inmunofenotipo), ausencia de departamento de radioterapia y banco de sangre propio, ausencia de carro rojo de quimioterapia y ausencia de personal (no contar con, por lo menos, dos oncólogos o hematólogos pediatras)

Otro factor que interviene en el desenlace, es el apego al tratamiento, que se relaciona con la tasa de abandono en el mismo, situación que se presenta con mayor frecuencia en el grupo de pacientes adolescentes. Klünder-Klünder y cols. realizaron un estudio en el 2012, cuyo objetivo fue determinar la tasa de abandono del tratamiento tanto en otros países como en México, antes y en la era del Seguro Popular. La frecuencia de abandono previa al Seguro Popular fue de 21.4%, en contraste con el 13.3% posterior a su implementación, la frecuencia fue mayor en las fases tempranas de tratamiento y en los estados de Hidalgo y Puebla se registró el mayor número de casos. Lo anterior nos describe que existen factores sociales y económicos que influyen de manera directa con la evolución de la enfermedad y que gracias al apoyo recibido por el Seguro Popular, se logra controlar parcialmente esta variable.<sup>6</sup>

En nuestro país, los gastos del tratamiento para cáncer infantil como la leucemia linfoblástica y mieloblástica aguda en pacientes que no son derechohabientes del IMSS o ISSSTE son absorbidos por el Seguro Popular mediante el Fondo de Protección para Gastos Catastróficos<sup>6</sup>, el cual incluye la adquisición de medicamentos como prednisona, ácido fólico, hidrocortisona, ciclofosfamida, L-asparaginasa y antineoplásicos como citarabina, vincristina, 6-mercaptopurina y metotrexato; este último es el fármaco de mayor uso en la fase de consolidación para el tratamiento de la LLA (Protocolo de la Atención para Leucemia Linfoblástica<sup>9</sup>).

De acuerdo al Programa de Trabajo para la Dirección 2010-15, el INP tiene como principal problema de atención el cáncer, principalmente por leucemias y linfomas. Estas atenciones en conjunto con las pruebas especiales y la quimioterapia representan el 27% del presupuesto total asignado al área asistencial y el 33% de toda la atención



a la salud. El costo aproximado del tratamiento mensual para estos pacientes es \$9,000.00. El 49% de los pacientes pertenecen a familias mono-parentales con mujeres al frente, 34% más familias se separan 3 meses posteriores al diagnóstico. Por lo antes expuesto es necesario implementar una línea de investigación en farmacogenética y farmacogenómica de antineoplásicos, esta investigación debe buscar un impacto directo en el esquema de quimioterapia individualizada, la cual permita mejorar la eficacia terapéutica, la calidad de vida y disminuir la presencia de reacciones adversas.

### 1.2 Definición de Leucemia.

Las leucemias corresponden a una proliferación incontrolada células inmaduras (blastos) que han perdido la capacidad de regulación, que provoca una interrupción de la función medular normal y en último término, una insuficiencia medular.<sup>8</sup>

Presenta un pico máximo de incidencia entre los 2 a 5 años, mismo que disminuye con el tiempo, con una media de tres años y un predominio en sexo masculino sobre el femenino.

### 1.3 Clasificación<sup>10</sup>:

En base al tipo celular de la cual se originan se clasifican en: linfoblástica (75%), mieloblástica (23%) y granulocíticas (1-3%).

<b>Tabla 3. Clasificación de las leucemias agudas linfoblástica</b>		
<b>Morfología</b> ( De acuerdo a la FAB)	<b>Inmunofenotipo</b>	<b>Citogenética</b>
Permite hacer el diagnóstico de Leucemia	Para saber el tipo histológico y fase de maduración 85% Pre B 15% Cel. T 1% Cel. B	Relevante para el pronóstico
<b>L1:</b> Células pequeñas con cromatina homogénea, y escaso citoplasma, núcleo circular, dos nucléolos	Células B: -Pro B: HLA DR, CD19, CD79 -PreB común CD10 /CALLA + -Pre B transicional: Ig citoplasmáticas -Linf B maduro: Ig de superficie	Alteraciones numéricas (Recordar euploidia = 46 cromosomas) Hiperdiploidía: >46 cromosomas (alteración numérica más común) Hipodiploidía: <46 cromosomas
<b>L2:</b> Células grandes y heterogéneas, con núcleo irregular arriñonado y citoplasma variable, 3-4 nucléolos.	Células T: -Linf T temprano: CD1, CD3, CD5. -Linf T cooperador : CD4 -Linf T citotóxico: CD8	Alteraciones Estructurales: -Translocaciones: t(12;21) La más común 15-20% t (4;11) Menores de 1 año t(9;22) Cromosoma Filadelfia = mayor riesgo
<b>L3</b> (linfocitos B maduros): Células grandes y homogéneas. Característica principal: vesículas lipídicas en el citoplasma.		

### 1.4 Etiología:

La etiología es multifactorial: factores genéticos (trastornos cromosómicos), factores ambientales (exposición directa a hidrocarburos y pesticida), agentes físicos (radiación ionizante), agentes químicos (alquilantes, nitrosurea, epipodofilotoxina, exposición al benceno), gemelo monocigótico con leucemia.

### 1.5 Factores pronósticos:

Se agrupan en las siguientes categorías:

- Indicadores clínicos y de laboratorio al momento del diagnóstico.
- Respuesta inicial al tratamiento.

<b>Tabla 4. Factores pronósticos en LAL.</b>		
Factor de riesgo	Favorable	Desfavorable
Edad	>1 a <9 años	<1 o >9 años
Género	Femenino	Masculino
Raza	Caucásico , asiáticos	Africano, americano.
Cuenta leucocitaria al diagnóstico.	<50,000/ mm <sup>3</sup>	>50,000/ mm <sup>3</sup>
Índice de ADN	>1.16	<1.16
Número de cromosomas por célula leucémica.	>50	<45 y especialmente 24-28
Respuesta a la ventana esteroidea en el día 8.	No blastos en sangre periférica. <5% de blastos en médula ósea	Blastos en sangre periférica. >25 % de blastos en médula ósea
Infiltración a SNC	Estadio 1 ( si)	Estado 3 ( no)
Citogenética	Trisomía 4 , 10 y 17	t (4;11) , t (9; 22) t ( 1; 19) Resistente a Metotrexato) t(8;14)
Genética molecular	TEL-AML1	Rearreglos genéticos MLL
Inmunofenotipo	Precursor B	Células T, células B maduras.

La edad, la cuenta leucocitaria, el género y los subtipos citogenéticos e inmunofenotípicos son los mayores determinantes del riesgo de recaída, mismos que muestran en la tabla 4. Tanto la edad como la cifra de leucocitos son históricamente los factores más importantes y de mayor peso, así como ideales por encontrarse disponibles fácilmente. Actualmente el factor pronóstico más importante es la respuesta precoz al tratamiento, cuantificado por la enfermedad mínima residual (EMR). La respuesta precoz al tratamiento refleja las características genéticas de los linfoblastos, las características farmacodinámicas y farmacogenéticas del paciente y el efecto de la quimioterapia sobre las células.

Villasís Keever y cols, realizaron un metanálisis en 2012 sobre factores pronóstico relacionados con la mortalidad, donde se encontró que factores como la edad y el sexo son consistentes en todos los artículos revisados, se describe que aquellos pacientes de sexo femenino y mayores a 1 año y menores de 9 años, tendrán menor probabilidad de morir a consecuencia de la propia enfermedad. Aunque existen otros factores que posiblemente intervengan en el curso de la enfermedad (ambientales) a partir de este estudio se describe que el pronóstico deriva de las propias características de la enfermedad, de su forma de presentación, evolución y respuesta al tratamiento. Es así que los factores que poseen mayor peso para un pronóstico es la cuenta de leucocitos al diagnóstico (50,000 células/ $\mu$ L), el inmunofenotipo (las leucemias de células B tienen mejor pronóstico que las células T), la presencia de ciertas translocaciones así como la presencia de infiltración al sistema nerviosos central al diagnóstico y la presencia de enfermedad mínima residual.<sup>9</sup>

La expresión de biomarcadores asociados con la activación de vías de señalización celular es determinante para establecer el pronóstico de la enfermedad, se han descrito variantes en determinados genes participantes en las vías metabólicas de diferentes fármacos citotóxicos que pudieran estar relacionados con el pronóstico al modificar la eficacia del fármaco o su acumulación, que deriva en el éxito del tratamiento o en la presencia de efectos adversos.

## 1.6 Tratamiento

De acuerdo a los factores pronósticos tanto clínicos como de laboratorio y la respuesta a la quimioterapia, se establece el riesgo de falla al tratamiento en cada paciente. A cada paciente se le asigna una categoría de riesgo, cuya nomenclatura tiene variaciones entre los distintos grupos internacionales que se dedican al estudio de esta neoplasia. El protocolo XV del *St. Jude Children's Research Hospital* estratifica a los pacientes en cuatro grupos de riesgo: bajo, habitual o estándar, alto y muy alto.

	Riesgo bajo	Riesgo habitual	Riesgo Alto	Riesgo muy alto
Edad	>1 y < 10 años	1 a 9 años	<1 y >10 años	
Género	Cualquiera	Cualquiera	Cualquiera	
Cuadro clínico	Leucemia reciente	Leucemia reciente	Leucemia avanzada	
Infiltración extramedular	Ausente	Ausente	Presente	
Leucocitos	< 10 000	>10000 y <50 000	>50 000	
FAB	L1	L1 y L2	L3	
Inmunofenotipo	PCB CD10+	PCB CD10- ó +	B madura, T	
Genética	Hiperploidia. Triple trisomía de cromosomas 4, 10 y 17, t(12/21)	Cariotipo normal, pseudoploidia. 1 ó 2 de las trisomías 4, 10 y 17.	Hipoploidia (30 a 43 cromosomas)	t(9;22)(q34;q11), t(4;11)(q21;q23), casi haploide <29 cromosomas
Índice de ADN	≥1.16	1 a 1.15	<0.8	<0.6
RT-PCR	TEL/ AML1	E2A/PBX1		Bcr-abl, MLL/AF4
Respuesta prednisona	<1000 blastos en SP ó <25% de blastos en MO al día 7 de ventana	<1000 blastos en SP ó <25% de blastos en MO al día 7 de ventana	>1000 blastos en SP ó <25% de blastos en MO al día 7 de ventana	
Citorreducción temprana	MO en M1 al día 14 de la inducción	MO en M1 al día 14 de la inducción	MO en M2 al día 14 de la inducción	MO en M3 al día 28
ERM	Indetectable ó ≤10 <sup>-4</sup> a semanas 5 y 12	<10 <sup>-3</sup> a las semanas 5 y 12	>10 <sup>-2</sup> a las semanas 5 y 12	>10 <sup>-2</sup> a las semana 16

Tabla 5. Sistema de clasificación del Children's Oncology Group. Adaptado de Rivera Luna.

El metotrexato y la 6-mercaptopurina son fármacos de amplio uso en la quimioterapia y con predominancia en el éxito terapéutico de ésta. El metotrexato es un fármaco clave en la fase de consolidación, administrándose en dosis dependientes del tipo de riesgo.

<b>Tabla 6. Relación de tipo de riesgo de LLA y dosis de Metotrexato (MTX) administrada durante la fase de consolidación.</b>	
<b>Tipo de riesgo</b>	<b>Dosis Administración</b>
Riesgo muy bajo	2 g/m <sup>2</sup> 4 sesiones (1 por semana)
Riesgo habitual	2 g/m <sup>2</sup> 3 sesiones (días 36, 68 y 94)
Alto riesgo (pre-B)	2 g/m <sup>2</sup> 2 sesiones (días 47 y 54)
Alto riesgo (cel.-T)	5 g/m <sup>2</sup> 4 sesiones (días 8, 22, 36 y 50)
Muy alto riesgo	5 g/m <sup>2</sup> 4 sesiones (días 1 y 8 del curso MARAM y del VIMARAM).

Para el caso de linaje T se considera de pronóstico desfavorable y se administran dosis de metotrexato de 5 g/m<sup>2</sup> así como etopósido.

Así mismo, este medicamento es de uso frecuente en la etapa de mantenimiento:

<b>Tabla 7. Relación de tipo de riesgo de LLA y dosis de Metotrexato ( MTX) administrada durante la fase de mantenimiento , fase 1</b>	
<b>Tipo de riesgo</b>	<b>Dosis Administración</b>
Riesgo muy bajo	50 mg/m <sup>2</sup> 86 semanas intercaladas con Vincristina y Dexametasona
Riesgo habitual	20 mg/m <sup>2</sup> 20 semanas (Dividido en 2 dosis/semana y 2 tomas/día)
Alto riesgo (pre-B)	40 mg/m <sup>2</sup> 30 semanas (semanas 2 y 3 IM de cada ciclo de 8 semanas)
Alto riesgo (cel.-T)	20 mg/m <sup>2</sup> 24 sesiones (1 vez por semana hasta completar 24 meses)
Muy alto riesgo	20 mg/m <sup>2</sup> 14 semanas al inicio de c/semana

**(Fase 2) 20 mg/m<sup>2</sup> 104 semanas al inicio de c/semana.**

### **1.7 Metotrexato (MTX)**

El compuesto (N-[4-[[[2,4-diamino-6-pteridinil)metil] metil-amino] benzoil]-L- ácido glutámico es un fármaco citotóxico del grupo de los antimetabolitos (Figura 4), es empleado para el tratamiento de neoplasias como la leucemia linfoblástica aguda, cáncer de mama, de pulmón, linfoma No-Hodgkin, osteosarcoma y en enfermedades como la artritis reumatoide, psoriasis, dermatomiositis y sarcoidosis <sup>11</sup>.

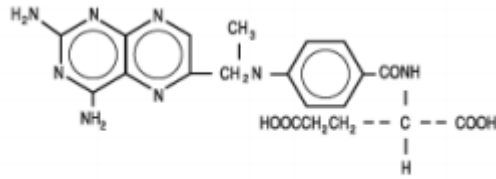


Figura 4. Estructura química del metotrexato

### 1.7.1 Mecanismo de acción.

Este fármaco ingresa a la célula mediante transporte activo secundario mediante el Transportador de Folato Reducido (Reduced Folate Carrier, RFC por sus siglas en inglés<sup>12</sup>, o por la Proteína de Unión a Folato (PUF), el cual tiene menor afinidad por metotrexato que el RFC<sup>10</sup>. En el interior celular el fármaco se metaboliza por la Folipoliglutamil sintetasa (FPGS), se conjuga con moléculas de glutamato (1-7 moléculas) produciendo poliglutamil-metotrexatos (Pg-MTX<sup>11</sup>). Los conjugados tienen mayor inhibición sobre enzimas del metabolismo de folatos, también se reporta que a mayor grado de glutamilación mayor es el tiempo de residencia intracelular y por lo tanto mayor citotoxicidad<sup>13</sup>. Los Pg-MTX son a su vez hidrolizados en fármaco libre por la enzima Folipoliglutamil hidrolasa ( $\gamma$ -glu-X carboxipeptidasa ó  $\gamma$ -glutamil hidrolasa, GGH), se ha encontrado relación de su actividad con la eficacia/resistencia debido a que al disminuir la concentración intracelular de Pg-metotrexatos se disminuye la actividad del fármaco<sup>14</sup>. El fármaco y sus conjugados afectan la actividad de enzimas del metabolismo de folatos: inhiben a la dihidrofolato reductasa (DHFR) enzima que reduce el dihidrofolato en tetrahidrofolato, el cual es un cofactor necesario para la timidilato sintasa (TS).

La TS sintetiza dTMP a partir de dUMP y tetrahidrofolato; en presencia de MTX se inhibe por dos mecanismos: a) por reducción del sustrato tetrahidrofolato generado por la DHFR y b) por inhibición directa por los Pg-MTX. La inhibición de las DHFR y TS conlleva a una disminución significativa en la concentración de dTMP. (Figura 5).

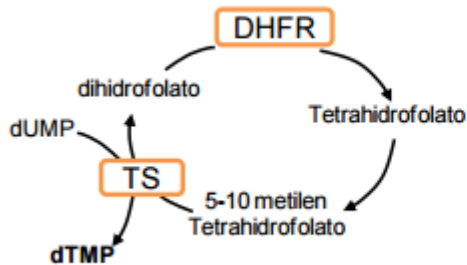


Figura 5. Metabolismo de folatos y biosíntesis de dTMP. Enzimas: DHFR: Dihidrofolato reductasa, TS: Timidilato sintasa.

La enzima AICAR transformilasa utiliza el 10-formiltetrahydrofolato para formar tetrahidrofolato y formil-5 amino 4-carboxamida ribonucleótido, este último metabolito es un precursor en la biosíntesis de nucleótidos como dGTP y dATP (Figura 6), la disminución de ambos compuestos compromete los mecanismos de replicación y reparación del DNA<sup>15</sup>. Como consecuencia de la disminución de 5-metil tetrahydrofolato se disminuye la síntesis de metionina y se afecta la capacidad de sintetizar proteínas, lo cual complica la viabilidad celular.

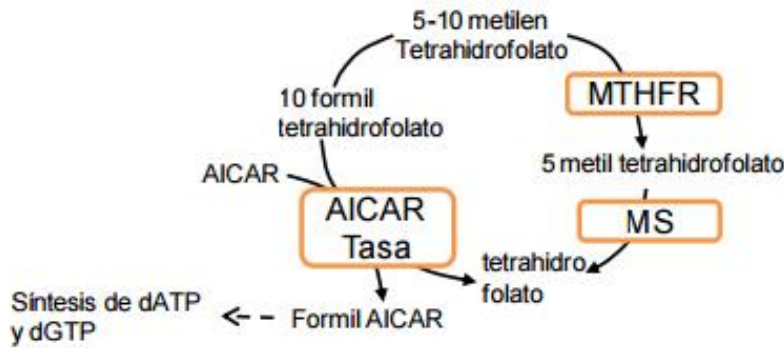


Figura 6. Metabolismo de folatos y síntesis de dATP y dGTP. Enzimas, MTHFR: Metileno tetrahidrofolato reductasa, MS: Metionina sintasa, AICAR Tasa: 5-amino 4-carboxamida ribonucleótido transformilasa.

### 1.7.2 Farmacogenética de metotrexato.

Como fue escrito por 1895 por el médico Claude Bernard “La excesiva complejidad de los procesos fisiológicos y de los organismos en los que son observados impone respeto por el dicho de que no hay dos pacientes iguales”. Este principio se cumple en el tratamiento quimioterapéutico de la LLA, en la población en tratamiento se ha observado pacientes que responden satisfactoriamente a la quimioterapia (“respondedores”) y pacientes que no responden adecuadamente (“no respondedores”), estos últimos pueden no mostrar mejoría (sin respuesta) ó presentar reacciones adversas al medicamento que pueden ir desde leves (nausea ó vomito) a severas como la muerte.

La respuesta farmacológica al medicamento es paciente-específica y está vinculada a factores genéticos y no genéticos (Figura 7); los cuales pueden alterar la absorción del fármaco, su distribución hasta su sitio de acción, la interacción con su sustrato (receptores y/o enzimas), se metabolismo (función hepática) y su excreción (función renal).

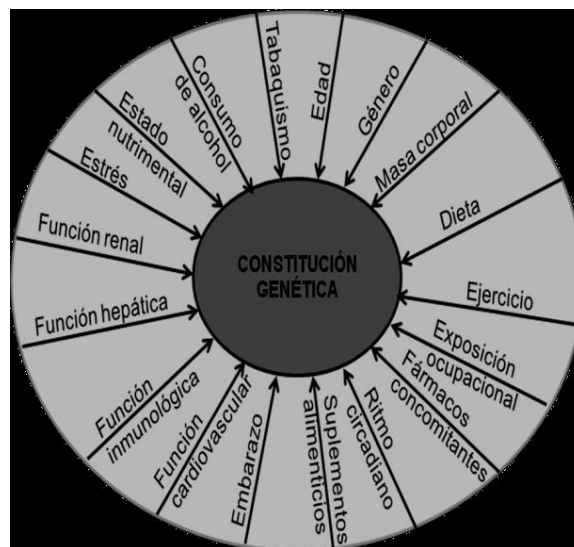


Figura 7. Factores individuales que afectan la respuesta farmacológica de un medicamento.

La influencia de los factores genéticos sobre la respuesta farmacológica (metabolismo y distribución) de un medicamento es estudiada por la **Farmacogenética**. Por lo tanto, las diferencias en la secuencia de los genes, como las causadas por polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), pueden provocar cambios en la secuencia

de aminoácidos. El cambio en la secuencia de la proteína puede alterar el efecto del fármaco y/o la actividad sobre éste, en consecuencia afectar la eficacia del tratamiento.

En el caso del metotrexato se han realizado múltiples ensayos para describir la relevancia de polimorfismos en enzimas relacionadas a su efecto (MTHFR, DHFR, AICAR) así como en proteínas de transporte- excreción (RFC, transportadores del tipo ABC) y en enzimas del metabolismo del fármaco (FPGS y GGH).

A continuación se describen algunos hallazgos en la farmacogenética de metotrexato:

**MTHFR.** Dos SNPs del gen MTHFR han sido ampliamente estudiados. Primero, el SNP C677T (rs1801133, cambio de Ala222Val) provoca una disminución del 40% de la actividad enzimática en heterocigos y de un 70% en homocigos, este genotipo está presente en un 10% de la población caucásica<sup>15</sup>. Un meta-análisis reciente realizado a partir de 55 artículos científicos, involucrando a más de 1,400 pacientes con artritis reumatoide, ha mostrado que el C677T está asociado en forma significativa al incremento en toxicidad (Odd ratio=1.7<sup>19</sup>). Asimismo, otros estudios han encontrado asociación del C677T con toxicidad y con una menor probabilidad de supervivencia en pacientes con LLA<sup>16,17,18</sup>, aunque en otros estudios no se ha encontrado asociación alguna entre el C677T y algún tipo de riesgo.

El SNP A1298C (rs1801131, cambio de Glu429Ala) de la MTHFR también ha sido analizado con respecto a la respuesta a MTX. Los resultados también han sido contradictorios pues algunos ensayos no han encontrado asociación del A1298C con toxicidad o riesgo por MTX, mientras que estudios en linfoma no Hodgkin<sup>20</sup>, en enfermedad inflamatoria intestinal<sup>21</sup> y en pacientes que recibieron trasplante de médula ósea<sup>20</sup> mostraron que los homocigos 1298CC fueron más propensos a desarrollar reacciones adversas al MTX. Aunque el A1298C también se ha reportado como asociado al tratamiento para la artritis reumatoide, el meta análisis de Fisher<sup>19</sup> concluye que este SNP no está asociado con la toxicidad inducida por MTX.

**DHFR.** Es una de las enzimas blanco del fármaco, su inhibición desacopla la síntesis de tetrahidrofolato y afectan a las enzimas dependientes de folato. Se ha descrito que polimorfismos en la zona promotora incrementan su expresión y están asociados a mecanismos de resistencia a MTX<sup>21,22,23</sup>.

**ATIC.** Los conjugados de metotrexato con glutamato (Pg-MTX) poseen actividad inhibitoria sobre la enzima ATIC, enzima bifuncional que cataliza los procesos finales de la síntesis de purinas. Dervieux y colaboradores<sup>26</sup> encontraron que en los homocigos GG del SNP C347G (cambio de Treonina 116 a Serina) se incrementa la probabilidad de responder adecuadamente a MTX comparado con los genotipos heterocigos CG u homocigos CC. Del mecanismo de acción se destaca que es necesario el ingreso del fármaco y un tiempo de residencia intracelular adecuado para ejercer su efecto en las células neoplásicas; esto recae en la actividad de las proteínas de transporte como RFC (ingreso), ABCB1, ABCG2 (exporte mediante ATP) y de enzimas de metabolismo intracelular como FPGS (poliglutamilación) y GGH (hidrólisis de poliglutamatos).

**RFC.** El polimorfismo más estudiado en el gen *RFC* (gen *SLC19A1*) es el 80G>A (rs1051266). Este SNP consiste en una sustitución de Guanina por Adenina en la secuencia CACACGAGG CGC CGCCAGGAC, con cambio de Arginina (CGC) por Histidina (CAC) en el aminoácido 27. Las frecuencias alélicas por poblaciones de acuerdo a la base HapMap indican diferencias de acuerdo al origen étnico (Tabla 8):

Origen étnico	Alelo G	Alelo A
CEU (Europeo)	0.562	0.438
<b>MEX (Mexicanos en USA)</b>	<b>0.670</b>	<b>0.330</b>
HCB (Este de Asia)	0.488	0.512
JPT (Japonés)	0.442	0.558
YRI (Nigeria, África)	0.310	0.690
ASW(Africanos en USA)	0.531	0.459
CHB (Chinos de Beijing)	0.512	0.488
CHD (Chinos en USA)	0.535	0.465
GIH (Hindús en USA)	0.608	0.392

**Tabla 8. Frecuencia alélica reportada por HapMap para el SNPrs 1051266.**



Se ha sugerido que el SNP G80A está asociado con la alteración en los niveles de folato/antifolato, sujetos con el genotipo AA tienden a tener mayores niveles plasmáticos de folato y metotrexato, en este estudio se reporta que los niños con la variante 80AA tienen un peor pronóstico en la tasa de supervivencia (recaída ó muerte) que los niños con el genotipo 80GG (OR=3.0; 95% IC 1.1-8.1; P 0.03<sup>24</sup>).

Otro estudio realizado en 500 niños con LLA tratados de acuerdo al protocolo Nórdico mostró que la variante AA se asoció con un 50% mejor oportunidad de remisión comparado a los genotipos GG ó GA (Hazard ratio=0.5, 95% IC: 0.25-1.00, p= 0.046); también se reporta que aunque no hay significancia estadística, los sujetos con la variante AA tuvieron un 75% menos riesgo de recaídas en el sistema nervioso central que los pacientes con GG ó GA. Este estudio también indica que en un subconjunto de pacientes que recibían muy altas dosis de metotrexato se observó mayor efectos adversos en médula ósea e hígado en aquéllos que portaban el genotipo AA con respecto a los GG/GA<sup>25</sup>. También se han llevado a cabo estudios sobre este SNP en líneas celulares neoplásicas, el genotipo homocigo 80AA se encontró en líneas celulares sensibles a metotrexato mientras que otras líneas con nivel de resistencia moderada al fármaco poseen el genotipo GG<sup>26</sup>.

Como se aprecia hay resultados contradictorios entre los genotipos asociados a riesgo/eficacia, esto puede deberse al origen étnico de las poblaciones en estos estudios, aunque si se destaca que el SNP afecta la concentración intracelular de fármaco; Whetstine y colaboradores<sup>27</sup> postulan que esto puede deberse a que el cambio de Arginina por Hisitidina modifica el dominio transmembranal de la proteína y por lo tanto afecta la actividad transportadora de folatos y de metotrexato. Por lo tanto es relevante determinar la frecuencia de este SNP en la población pediátrica mexicana con LLA y determinar la asociación del polimorfismo con los niveles de metotrexato y los posibles eventos adversos por las dosis implicadas en la fase de consolidación de la quimioterapia.

**GGH.** La enzima  $\gamma$ -glutamil hidrolasa (GGH) hidroliza los Pg-MTX a metotrexato libre y algunos de sus polimorfismos se han asociado con diferencias en los niveles de Pg-metotrexatos en pacientes con LLA<sup>34</sup> y con artritis reumatoide<sup>28</sup>. La base de datos PharmGKB muestra 6 SNPs para GGH: rs11545077, rs11545078, rs11786893, rs3780126, rs1800909 y rs3758149. El SNP rs11545078 (secuencia TTATTAAGTCCAC) provoca el cambio de Tre127 a Ile127. Cheng y colaboradores reportan una relación inversa entre la actividad de la enzima y la acumulación de Pg-metotrexatos, el análisis de SNPs asociados a la actividad en pacientes con LLA mostró que el C452T (rs11545078) se encontró en pacientes con baja actividad de GGH en células de linaje T y de linaje B hiperdiploides. Los pacientes de origen caucásico (10%, 95% IC: 6.7-13.3%, n=155) tuvieron una mayor frecuencia estadísticamente significativa del alelo Ile que los de origen afroamericano (4.4%, 95% IC: 1.2-7.5%, n=80; p=0.033)<sup>29</sup>.

Así mismo, este estudio mostró que el modelamiento de la proteína mostró que el cambio de aminoácido (T127I) afecta la conformación molecular y esto altera la afinidad por los Pg- metotrexatos de cadena larga (de 4-7) pero no con los de cadena corta (de 1-3). De hecho la eficiencia catalítica se reduce en un 67%. El análisis concluye que este SNP está asociado con la actividad catalítica de la enzima y por ende en la acumulación de Pg-metotrexatos de cadena larga, factor asociado a la eficacia/toxicidad del tratamiento quimioterapéutico.

Dervieux y colaboradores<sup>30</sup> reportaron que los pacientes con genotipo homocigo TT del SNP rs3758149 tuvieron niveles de Pg-metotrexatos 4.8 veces superiores a los obtenidos en los pacientes con artritis reumatoide cuyo genotipo fue CC ó CT (95% IC: 1.8-13.0, p=0.002), en este caso el genotipo se asoció con eventos adversos a bajas dosis de fármaco aunque en el caso del tratamiento de LLA pudiera correlacionar con mejor eficacia de la quimioterapia.

Para los otros SNPs reconocidos en la enzima GGH solo existe asociación marginal entre las variación alélica y patologías como cáncer, leucemia ó artritis reumatoide, por lo tanto para este estudio solo se destaca el análisis de los polimorfismos rs11545078 y rs3758149. De los SNPs a analizar (rs11545078 y rs3758149) se presenta la tabla de frecuencia alélica (Tabla 9) reportada en la base HapMap:

Origen étnico	rs11545078		rs3758149	
	Alelo C	Alelo T	Alelo C	Alelo
CEU (Europeo)	0.925	0.075	0.692	0.308
<b>MEX</b> (Mexicanos en USA)	-	-	-	-
HCB (Este de Asia)	0.911	0.089	0.778	0.222
JPT (Japonés)	0.861	0.139	0.64	0.360
YRI (Nigeria, África)	0.971	0.029	0.858	0.142
ASW(Africanos en USA)	0.949	0.051	'	'
CHD (Chinos en USA)	0.933	0.067	'	'
GIH (Hindús en USA)	0.824	0.176	'	'

**Tabla 9. Frecuencia alélica reportada por HapMap para los SNPs rs11544078 y rs3758149.**

**FPGS.** Este gen está vinculado al metabolismo intracelular de metotrexato al transformarlo en derivados con glutamato de mayor efecto y vida intracelular<sup>13, 28</sup>. En otro estudio se mostró que la actividad de esta enzima es muy importante para la acumulación de los Pg-metotrexatos de 4 a 6 glutamatos, lo cual afecta seriamente la actividad antineoplásica del fármaco en el tratamiento quimioterapéutico en niños con leucemia<sup>31</sup>.

Para este gen se ha reportado que el polimorfismo rs1544105 (TTTAC **A/G** TCGAA) puede ser un marcador de predisposición a una pobre respuesta al tratamiento contra la artritis reumatoide en pacientes de origen Hindú (ensayo realizado con 281 pacientes). Este estudio indica que los genotipos AA/AG pueden ser considerados como de riesgo mientras que el genotipo GG es de bajo riesgo (OR= 3.47, 95% IC: 1.19-10.1236), aunque no existen reportes de su asociación como alelo de riesgo para pacientes con LLA, lo cual hace interesante estudiar su probable participación en esta patología. La frecuencia alélica reportada por HapMap para este SNP se muestra en la tabla 10.

En otro estudio se determinó mediante análisis *in vitro* empleando mutagénesis sitio dirigida, que tres aminoácidos de la enzima FPGS son clave en el mecanismo de catálisis para formar los poliglutamil metotrexatos<sup>32</sup>; en particular se encontró que el cambio de la Cisteína 346 a Alanina provoca un decremento importante en la actividad de la FPGS. Liani y colaboradores<sup>33</sup> en un análisis de la actividad de esta enzima en diferentes líneas celulares de leucemia humana encontraron una asociación *in vivo* de lo reportado por Sanghani y colaboradores<sup>32</sup>; ellos muestran que el cambio de la Cisteína 346 (codón TGC) a Fenilalanina (codón TTC) en la proteína provoca un decremento de 23 veces su afinidad por el L-glutamato con lo cual disminuye su capacidad de generar los poliglutamil metotrexatos e incrementa la resistencia a este antineoplásico. La frecuencia de esta mutación no ha sido reportada en población alguna y por ende es relevante conocer su frecuencia en la población pediátrica mexicana con diagnóstico de LLA.

Origen étnico	Alelo G	Alelo A
CEU (Europeo)	0.642	0.358
<b>MEX (Mexicanos en USA)</b>	<b>0.510</b>	<b>0.490</b>
JPT (Japonés)	0.343	0.657
ASW(Africanos en USA)	0.387	0.613
CHB (Chinos de Beijing)	0.333	0.667
CHD (Chinos en USA)	0.300	0.700
GIH (Hindús en USA)	0.602	0.398

**Tabla 10. Frecuencia alélica reportada por HapMap para el SNP rs1544105**

**ABCB1.** Para este gen se han reportado diferentes polimorfismos, algunos de estos pueden afectar la actividad de excretar diferentes fármacos.

El SNP rs1045642, también nombrado C3435T, es un polimorfismo sinónimo (Ile) con secuencia de AAGAGAT [A/C/T] GTGAGGG. Se reportó que el genotipo TT disminuye la expresión de la proteína en líneas celulares de cáncer de mama y ovario<sup>33</sup>; en relación a esto, Kafka y colaboradores<sup>34</sup> en su estudio realizado en 68 pacientes con cáncer de mama bajo quimioterapia con antraciclinas y taxanos muestran que existe una potencial correlación del genotipo con la respuesta terapéutica, el genotipo TT está relacionado con un incremento en la respuesta farmacológica a la quimioterapia ( $p= 0.029$ , prueba exacta de Fisher). Para el genotipo CC se reporta que está asociado ( $p= 0.16$ ) con un incremento en la “clarificación” de etopósido en niños con LLA<sup>35</sup>. Así mismo, se reportó que pacientes refractarios a los fármacos antiepilépticos poseían principalmente el genotipo CC del rs1045642 (OR= 2.66, 95% IC: 1.32 – 5.38;  $p=0.006$ ), aunque este SNP se incluyó en un bloque extenso de desequilibrio de ligamiento, lo cual podría implicar que el polimorfismo *per se* es la causa de la resistencia farmacológica sino más bien estar ligado a la variante causal<sup>36</sup>.

Leal-Ugarte y colaboradores<sup>37</sup> reportaron la frecuencia génica de este SNP para población pediátrica mexicana en 107 niños con LLA y 117 niños sanos, no se encontró asociación de genotipos con mayor riesgo de esta neoplasia (frecuencias: CC=0.17 vs 0.14; CT=0.61 vs 0.53 y TT=0.22 vs 0.33 en niños con LLA y sanos, respectivamente) aunque no se determinó riesgo por toxicidad, niveles plasmáticos de antineoplásicos o variables de mejoría entre los pacientes, por lo tanto es de nuestro interés conocer la frecuencia alélica y génica de este SNP y su posible relación con los niveles intracelulares de metotrexato en pacientes con LLA.

Finalmente, otro SNP reportado para el gen *Abcb1* con asociación clínica relevante es el rs2032582 (G2677T/A) que es del tipo no sinónimo con secuencia CTAGAAGGT GCT GGGGAAGGT, el SNP GCT codifica para Alanina, TCT para Serina y ACT para Treonina en el aminoácido 893 de la secuencia proteica. La variante T posee un 2.6 mayor riesgo de desarrollar cáncer de pulmón, particularmente el llamado carcinoma de células escamosas (CI 1.7-40,  $p <0.001$ ). Parece existir efecto de dosis génica, dado que los homocigos TT poseen mayor riesgo global (odd ratio= 6.75 comparado a los homocigos AA, CI 3.0-15.2). La frecuencia génica reportada por la base HapMap (Tabla 11) para los polimorfismos de *Abcb1*:

Origen étnico	rs2032582		rs1045642	
	Alelo T	Alelo C	Alelo A	Alelo G
CEU (Europeo)	0.469	0.531	0.571	0.429
<b>MEX (Mexicanos en USA)</b>	<b>0.430</b>	<b>0.570</b>	<b>0.460</b>	<b>0.540</b>
HCB (Este de Asia)	0.589	0.411	0.402	0.598
JPT (Japonés)	0.552	0.448	0.459	0.541
MKK (Kenia, África)	0.087	0.913	0.152	0.848
ASW(Africanos en USA)	0.094	0.906	0.202	0.798
CHD (Chinos en USA)	0.506	0.494	0.369	0.631
GIH (Hindús en USA)	0.653	0.347	0.597	0.403

Tabla 11. Frecuencia alélica reportada por HapMap para los SNPs rs2032582 y rs1045642.

**ABCG2.** Para el gen *Abcg2* se han reportado 21 SNPs en la región codificante para la proteína y otros más en los intrones y en las regiones 5'UTR y 3'UTR. Se han reportado tres SNPs con relevancia clínica<sup>38,39</sup>. El SNP C421A (rs2231142) ha sido reportado generar una proteína de baja expresión y con baja actividad y se ha asociado con eventos adversos por metotrexato<sup>40</sup>.

Este SNP tiene una secuencia AACTTA CAG TTCTCA con cambio de Glutamina (CAG) a Lisina (AAG).

Otro SNP reportado para *Abcg2* es el G34A (rs2231137) el cual se ha asociado con la susceptibilidad de linfomas de células B grandes difusas<sup>41</sup>; este polimorfismo es del tipo no sinónimo y tiene una secuencia reportada de TTTTATCCCA GTG TCACAAGG, con cambio de Valina (GTG) a Metionina (ATG). La frecuencia génica reportada por la base HapMap para los SNPs de *Abcg2* (Tabla 12).

Origen étnico	rs2231142		rs2231137	
	Alelo T	Alelo C	Alelo A	Alelo G
CEU (Europeo)	0.889	0.111	0.983	0.017
<b>MEX (Mexicanos en USA)</b>	<b>0.800</b>	<b>0.200</b>	<b>n.d.</b>	<b>n.d.</b>
HCB (Este de Asia)	0.708	0.292	0.711	0.289
JPT (Japonés)	0.657	0.343	0.807	0.193
MKK (Kenia, África)	0.990	0.010	n.d	n.d.
ASW(Africanos en USA)	0.962	0.038	n.d	n.d.
CHD (Chinos en USA)	0.685	0.315	n.d.	n.d.
GIH (Hindús en USA)	0.938	0.062	n.d.	n.d.

Tabla 12. Frecuencia alélica reportada por HapMap para el SNP rs 2032582 y rs 1045642

## 1.8 Definición efectos adversos:

### 1.8.1 Mucositis:

Se define como lesiones inflamatorias y/ o ulcerativas en las cavidad oral y / o en el tracto gastrointestinal causado por quimioterapias.

El riesgo de desarrollar mucositis se ha relacionado de forma clásica a la modalidad, intensidad y vía de administración de la quimioterapia, sin embargo parece existir un riesgo adicional radicado a nivel genético (polimorfismos) que participan en el grado de expresión clínica de estos efectos adversos.

Como se ha descrito en la literatura, el metotrexato es un antimetabolito que afecta aquellas células de rápida división, incluyendo las células epiteliales de la mucosa oral, gastrointestinal y de la medula ósea, lo que explica por qué la mucositis oral es de forma frecuente una manifestación inicial de toxicidad por metotrexato. De forma usual se ha asociado a este efecto adverso a dosis altas de MTX definidas como > 500mg/ m<sup>2</sup>.

Dentro del daño químico o físico ocasionado por la terapia antineoplásica a la mucosa oral o gastrointestinal, se han descrito distintos estadios <sup>42</sup>:

1. Iniciación: Daño del DNA y otras moléculas tanto por acción directa como por especies reactivas de oxígeno.
2. Regulación y generación de mensajeros: El daño inicial activa la transcripción de Factor nuclear Kappa – B que origina la producción moléculas proinflamatorias y proapoptotica en las capas basales del epitelio y en el estroma subepitelial.
3. Señalización y amplificación: Las citosinas proinflamatorias se acumulan y promueven la transcripción de genes que codifican cinasas activadas por mitógenos (MAPK), cicloxigenasa2 (COX2) y otras moléculas de señalización.
4. Ulceración e inflamación: Se activan enzimas proteolíticas, como las metaloproteinasas, que son los efectores finales del proceso que termina por producir una úlcera, la cual se coloniza con bacterias u hongos lo que intensifica el proceso inflamatorio.
5. Reparación: Finalmente el epitelio se repara y la úlcera se cierra, en 3 – 7 días después de iniciado la quimioterapia.

Existen fundamentalmente dos tipos de mucositis: eritematosa y ulcerativa. La eritematosa aparece a los cinco o seis días después de la quimioterapia, aunque en algunos casos puede aparecer antes (tres días). La ulcerosa es más grave y aparece a los siete días del inicio del tratamiento antineoplásico.

Existen diversos sistemas de clasificación para la mucositis, por un lado la escala de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se caracteriza por incluir aspectos clínicos de la exploración física con la capacidad de ingerir alimentos, mientras que la escala del National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) relaciona los síntomas, la capacidad de mantener la vía oral y la necesidad de intervención. A continuación se muestran ambas escalas <sup>43</sup>:

**Tabla 13. Escalas de severidad de mucositis.**

<b>OMS</b>	<b>NCI ( CT- CAE)</b>
0 Sin evidencia de mucositis (subjetiva / objetiva).	1 Asintomático o síntomas leves. Sin indicación de tratamiento.
1 Eritema generalizado, mucosa enrojecida, ausencia de dolor.	2 Dolor moderado, que no interfiere con la vía oral, se encuentra indicado la modificación de la dieta
2 Eritema y úlceras poco extensas, deglute sólidos, dolor ligero.	3 Dolor severo que interfiere con la vía oral.
3 Úlceras extensas, encías edematosas, deglute líquidos, dolor intenso, dificultad para hablar.	4 Consecuencias potencialmente letales que requiere intervención urgente.
4 Necrosis y úlceras extensas y profundas, encías sangrantes, infecciones, no hay saliva, imposibilidad para deglutir Dolor extenso y severo.	5 Muerte.

OMS = Organización mundial de la Salud. NCI = National Cancer Institute, Common Terminology Criteria for Adverse Events

La mucositis oral y gastrointestinal presenta un espectro sintomático y clínico amplio en el cual pueden encontrarse condiciones como infección, diarrea, alteración hidroelectrolítica alteración de la inmunidad de barrera, desnutrición, malnutrición e incluso sangrado de tubo digestivo, que provocan suspensión, retraso o reducción de los tratamientos antineoplásicos, lo cual repercute tanto en la calidad de vida del paciente, así como en su morbimortalidad y pronóstico.

Maiguma T y cols.<sup>44</sup> reportaron un estudio cuyo objetivo fue evaluar la relación entre concentraciones de metotrexato y la presentación de mucositis en paciente con leucemia linfoblástica aguda, 49 pacientes fueron tratados de acuerdo al protocolo de la Asociación Japonesa de Leucemia Infantil, HR02- LLA49, que incluye administración de dosis altas de metotrexato (3 g/m<sup>2</sup> en 24-h i.v. infusión). Se determinó la relación entre mucositis oral y niveles séricos de MTX a las 48 y 72 horas con los siguientes resultados: Se reportó mucositis oral en 24 pacientes (49.0%), de los cuales 20 pacientes (83.35% del grupo de mucositis) presentó mucositis grado 1 o 2 de acuerdo a la clasificación de la OMS. Solo 4 pacientes (16.4% del grupo de mucositis) presentó una severidad grado 3. 22 pacientes (44.9%) presentó mucositis oral en el grupo con una concentración menor a 10 – 16 M a las 48 horas posterior a la administración de metotrexato.

Se demostró que no hay relación significativa entre los niveles séricos de MTX y la mucositis oral, sin embargo el estudio in vitro demostró que el daño celular se relaciona más con la duración de la exposición al MTX con su alta concentración, lo cual nos habla sobre la importancia de contar con un metabolismo intacto de este fármaco que evite la interacción dañina.

## **1.9 Recaída.**

### **1.9.1 Definición:**

La recaída se caracteriza por presentarse durante el tratamiento o dentro de los dos primeros dos años después de la remisión. La mayor parte de las recaídas se producen a medula ósea, que se define como la reaparición (en un paciente con previa remisión) de blastos en medula ósea, en el caso del SNC, se refiere a la presencia de al menos 5 células/ microlitro en líquido cefalorraquídeo (LCR) con presencia de blastos o cualquier célula en LCR con inmunofenotipo sugerente de leucemia (TdT +, CD 10 +, CD -7). En el caso de testículo, se requiere de una biopsia concluyente con involucro testicular tumoral.

De acuerdo al tiempo de presentación, se reconoce que la recaída puede representar la consecuencia de una proliferación clonal de una célula que no fue eliminada con el tratamiento, por lo tanto se trata de un clon resistente. Se han detectado cambios fenotípicos entre las células del diagnóstico y las de la recaída, pero varios estudios han demostrado, especialmente en leucemias que recurren tempranamente, que el clon recidivante ya se encontraba presente en la leucemia inicial con un menor número de copias, lo que indica la selección de un clon preexistente resistente a la terapia administrada.<sup>45</sup> Por el contrario, en las recaídas tardías, puede conjeturarse que el origen es el desarrollo de una segunda leucemia a partir de una alteración premaligna

La tasa de curación general para los pacientes recién diagnosticados con leucemia linfoblástica aguda (LLA) se acerca aproximadamente al 80 % gracias a las terapias actuales. Sin embargo a pesar de los tratamientos dirigidos de acuerdo al riesgo y de intensificación, del 20 – 25% sufren recaída. El tratamiento de los pacientes con recaída presenta tasas subóptimas de remisión y mal pronóstico a largo plazo con tasas de supervivencia entre 15- 50 %.<sup>34</sup>

### **1.9.2 Factores de riesgo para recaída.**

Las tasas de recaída son sustancialmente más altas (25- 30 %) en ciertos grupos de alto riesgo:

- Adolescentes con LLA de células T.
- Afección de sistema nervioso central.

Los factores de riesgos para recaída incluyen: a) edad <1 año o >10 años), infiltración de SNC al diagnóstico, alteraciones moleculares y citogenéticas asociadas a leucemia quimiorresistencia.

La recaída continúa siendo la segunda causa más común de muerte relacionada a cáncer en la población infantil, la gran mayoría recurren en los primeros 2.5 años del diagnóstico. Para los pacientes con LAL de células T, la recurrencia después de 2.5 años representa una segunda leucemia más que una recaída de la leucemia original. En el caso de las LAL de células B con recurrencia tardía parece representar una evolución clonal de la enfermedad original.

En general, los niños que tienen EMR durante o después de la quimioterapia de inducción tienen más probabilidad de padecer una recaída (regreso de la leucemia) y por lo tanto puede que requieran de tratamiento más intenso. Los niños con más EMR tienen un mayor riesgo de recaída que los niños con menos EMR.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En nuestro Instituto, las neoplasias ocupan el 1er lugar de egresos hospitalarios en 2008 y 2009 (2,995 egresos totales) y el 2º lugar de mortalidad con 108 defunciones en el mismo periodo (Agenda Estadística INP). De leucemia linfoblástica aguda se reportaron 91 casos nuevos en el 2008.

En el Programa de Trabajo para la Dirección 2010-15, esta institución tiene como principal problema de atención el cáncer, principalmente por leucemias y linfomas. El costo del tratamiento representa el 27% del presupuesto total asignado al área asistencial y el 33% de toda la atención a la salud, con un costo mensual aproximado a \$9,000 pesos por paciente

La eficacia de la quimioterapia para el tratamiento de las neoplasias reside en diferentes factores, uno de estos es la constitución génica de cada individuo. Los niveles de expresión de algunos genes se han asociado con un mejor o peor pronóstico para la remisión de esta enfermedad. También se conoce que variantes alélicas (polimorfismos) en los genes que codifican para transportadores, enzimas y proteínas que participan en la distribución y metabolismo de fármacos antineoplásicos pueden modificar la expresión de estas proteínas o su actividad biológica, por lo tanto estos SNPs afectan las concentraciones plasmáticas del fármaco y en consecuencia afectan la citotoxicidad del compuesto.

En nuestro estudio planteamos la necesidad de implementar una línea de investigación en farmacogenética de antineoplásicos. Esta investigación debe buscar un impacto directo en el esquema de quimioterapia individualizada, la cual permita mejorar la eficacia terapéutica, la calidad de vida, disminuir la presencia de efectos adversos y finalmente, disminuir los costos de atención al generar nuevos protocolos de atención con mejores resultados.

## **3. JUSTIFICACIÓN**

La relevancia del presente estudio radica en evaluar la correlación entre los genotipos (SNPs) de las proteínas involucradas en el transporte y metabolismo intracelular del metotrexato con la presencia de mucositis y recaída. Este estudio se plantea la identificación de polimorfismos asociados a bajos niveles intracelulares de metotrexato y de Pg-metotrexato lo que podría estar asociado a baja efectividad de la quimioterapia y elevado riesgo de eventos adversos debido a que mayor fármaco se encuentra en circulación y puede afectar la viabilidad de células no blanco.

Es de necesario impactar sobre los protocolos de quimioterapia contra la LLA en pacientes pediátricos, mediante el desarrollo de una línea de investigación que coadyuve en el pronóstico de la efectividad del tratamiento con antineoplásicos como el metotrexato.

#### 4. OBJETIVOS.

##### Objetivo General.

Determinar la frecuencia génica de SNPs de los genes FPGS (Gene ID2356), GGH (Gene ID8836) y ABCB1 (Gene ID 5243) en población pediátrica con LLA.

##### Objetivos específicos

- Describir las características demográficas de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda.
- Describir la frecuencia de los tipos de leucemias linfoblástica así como su estadificación.
- Describir la frecuencia de presentación de factores de mal pronóstico (masa mediastinal al diagnóstico, hipodiploidía, cuenta leucocitaria, mala respuesta a la ventana esteroidea y recaída temprana).
- Describir con qué frecuencia se produce mucositis y sus diferentes subtipos.
- Describir la relación entre los SNPs de de los genes FPGS (Gene ID2356), GGH (Gene ID8836) y ABCB1 (Gene ID 5243) en población pediátrica con LLA y la frecuencia de presentación de mucositis y recaída.

#### 5. CLASIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Es un estudio Retrospectivo, Observacional, Analítico y Longitudinal.

#### 6. MATERIAL Y MÉTODOS

**POBLACIÓN.** La población objetivo serán pacientes del servicio de Hemato- Oncología, los cuales hayan sido diagnósticos con leucemia linfoblástica aguda.

- **Criterios de inclusión.** Se incluirán pacientes del INP cursando Leucemia Linfoblástica Aguda en el rango de edad de 1 a 18 años, con tipo de riesgo definido por factores clínicos, morfológicos y moleculares. La quimioterapia debe incluir al Metotrexato en la fase de consolidación. Para todos los pacientes se requerirá una Carta de Consentimiento Informado por parte de los padres y/o tutores, en el caso de pacientes mayores a 10 años deberán firmar Carta de Asentimiento.

-**Criterios de exclusión.** Pacientes con falla renal, falla hepática, transfusión sanguínea previa al estudio, desnutrición de grado III y/o cualquier afección que pueda afectar la determinación de los niveles del fármaco.

-**Criterios de eliminación.** Pacientes a quienes se les retire MTX de la quimioterapia, no acudan regularmente a su tratamiento (No apego al tratamiento: determinado por un porcentaje menor al 50% de administraciones efectivas), retiren voluntariamente su consentimiento y/o asentimiento para participar en el estudio y aquellos pacientes en los que no se obtenga la cantidad de muestras suficientes para el análisis de SNPs.



## 7. DEFINICIÓN DE VARIABLES.

Tabla 14. Definición de variables operacionales.

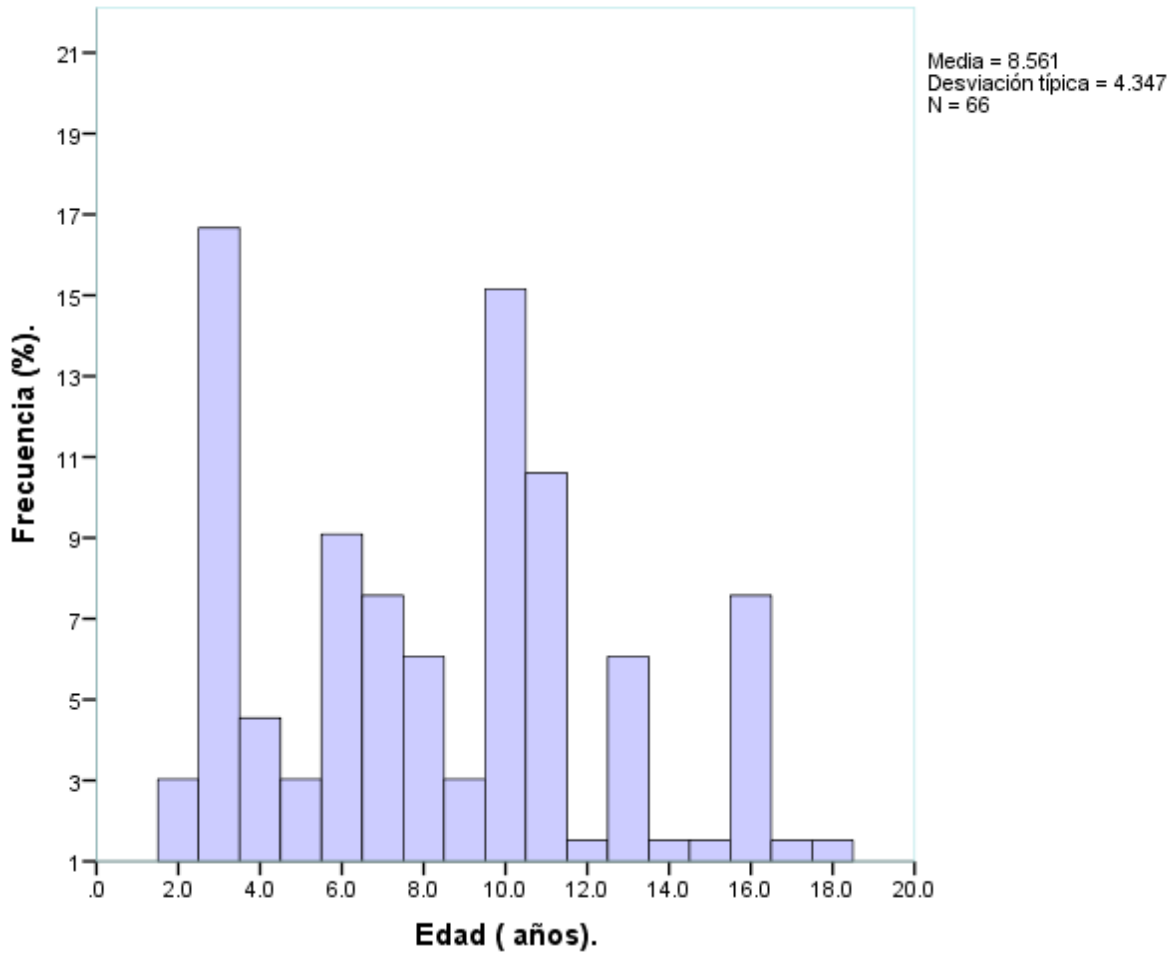
Variable	Definición operacional	Clasificación	Categoría
<b>Inmunofenotipos de Leucemia linfoblástica.</b>	Se define por el tipo de marcador predominante a nivel citogenético.	Cualitativa Nominal	Células Pre B Células T Linaje Mixto.
<b>Grupo de riesgo</b>	Se definen por factores clínicos (edad, sexo, recuento de blastos) y biológicos (estirpe leucémica, antígenos de superficie, etc.) que inciden en el pronóstico de remisión.	Cualitativa ordinal	Bajo Habitual Alto Muy Alto
<b>Género</b>	Características biológicas que permiten diferenciar entre hombre y mujer.	Cualitativa Dicotómica	Masculino Femenino
<b>Edad</b>	Tiempo transcurrido desde el nacimiento del sujeto.	Cuantitativa Continua	Años
<b>Dosis de metotrexato</b>	Cantidad de fármaco administrado por vía IV en infusión continua por 24 h	Cuantitativa Continua	2g/m2sc 5g/ m2sc
<b>Frecuencia alélica de polimorfismos</b>	Proporción de un alelo respecto al conjunto de los que pueden ocupar un locus determinado en la población.	Cuantitativa Continua	Número
<b>Factores de mal pronóstico</b>	Factores cuya presencia determinan un mal pronóstico respecto a la evolución de la enfermedad.	Cualitativa Nominal	-Mala respuesta a la ventana esteroidea. - Hipodiploidia. - Masa mediastinal al diagnóstico. -Cuenta leucocitaria.
<b>Mucositis</b>	Lesiones inflamatorias y/ o ulcerativas en las cavidad oral y / o en el tracto gastrointestinal causado por quimioterapias.	Cualitativa Dicotómica	SI NO
<b>Recaída</b>	Reaparición (en un paciente con previa remisión) de blastos en medula ósea. En el caso del SNC, se refiere a la presencia de al menos 5 células/ microlitro en líquido cefalorraquídeo (LCR) con presencia de blastos o cualquier célula en LCR con inmunofenotipo sugerente de leucemia (TdT +, CD 10 +, CD -7). En testículo, se requiere de una biopsia concluyente con involucro testicular tumoral.	Cualitativa Nominal	Medula ósea Testículo Sistema nervioso central

## 8. RESULTADOS.

A continuación se presentan los datos demográficos de los pacientes con LLA:

<b>Tabla 15. Frecuencia de edad en pacientes con diagnóstico de Leucemia linfoblástica aguda.</b>					
		<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Porcentaje válido</b>	<b>Porcentaje acumulado</b>
<b>Válidos</b>	2.0	2	2.9	3.0	3.0
	3.0	11	16.2	16.7	19.7
	4.0	3	4.4	4.5	24.2
	5.0	2	2.9	3.0	27.3
	6.0	6	8.8	9.1	36.4
	7.0	5	7.4	7.6	43.9
	8.0	4	5.9	6.1	50.0
	9.0	2	2.9	3.0	53.0
	10.0	10	14.7	15.2	68.2
	11.0	7	10.3	10.6	78.8
	12.0	1	1.5	1.5	80.3
	13.0	4	5.9	6.1	86.4
	14.0	1	1.5	1.5	87.9
	15.0	1	1.5	1.5	89.4
	16.0	5	7.4	7.6	97.0
	17.0	1	1.5	1.5	98.5
	18.0	1	1.5	1.5	100.0
	<b>Total</b>	<b>66</b>	<b>97.1</b>	<b>100.0</b>	
<b>Perdidos</b>	<b>.0</b>	<b>2</b>	<b>2.9</b>		
<b>Total</b>		<b>68</b>	<b>100.0</b>		

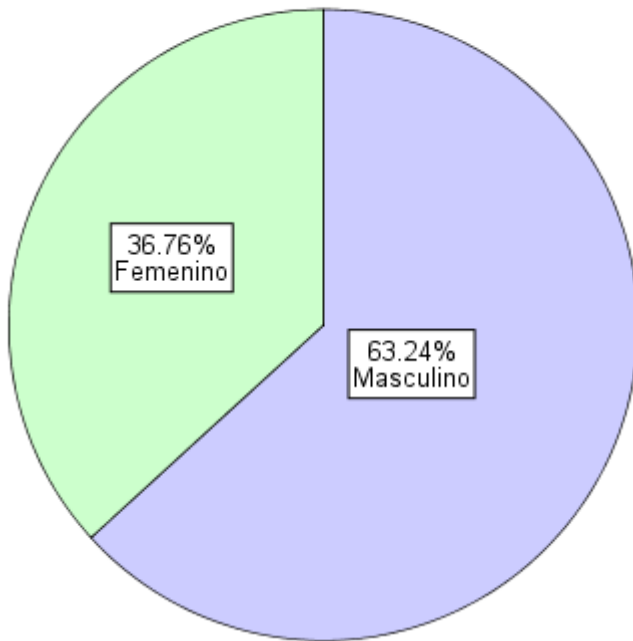
**Gráfico 4. Frecuencia de edad en pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda.**



De los 66 pacientes analizados para la variable edad, se encontró una media de 8.5 años, siendo la presentación de esta patología más frecuente en pacientes de 3 años (16.2 %), 10 (14.7) y 11 (10.3) años.

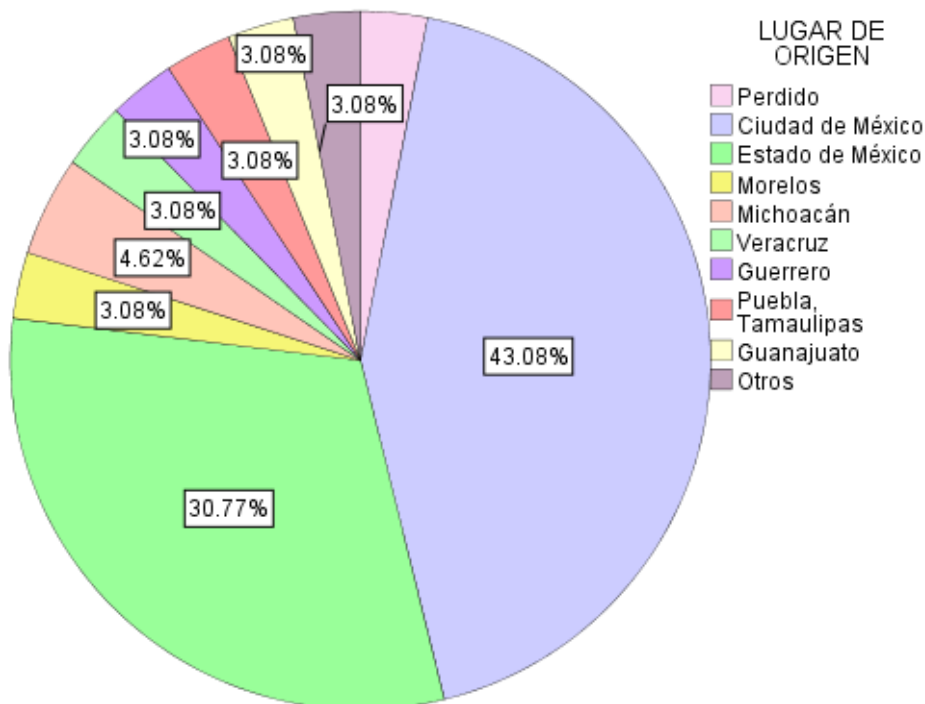
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Hombres	43	63.2	63.2	63.2
	Mujeres	25	36.8	36.8	100.0
	<b>Total</b>	<b>68</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	

**Grafico 5. Distribucion de sexo en pacientes con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda.**



En cuanto al sexo de los pacientes incluidos, se obtuvo una N = 68 (sin casos perdidos) en la cual se encontró una relación de 1.7:1 con predominancia del sexo masculino sobre el sexo femenino.

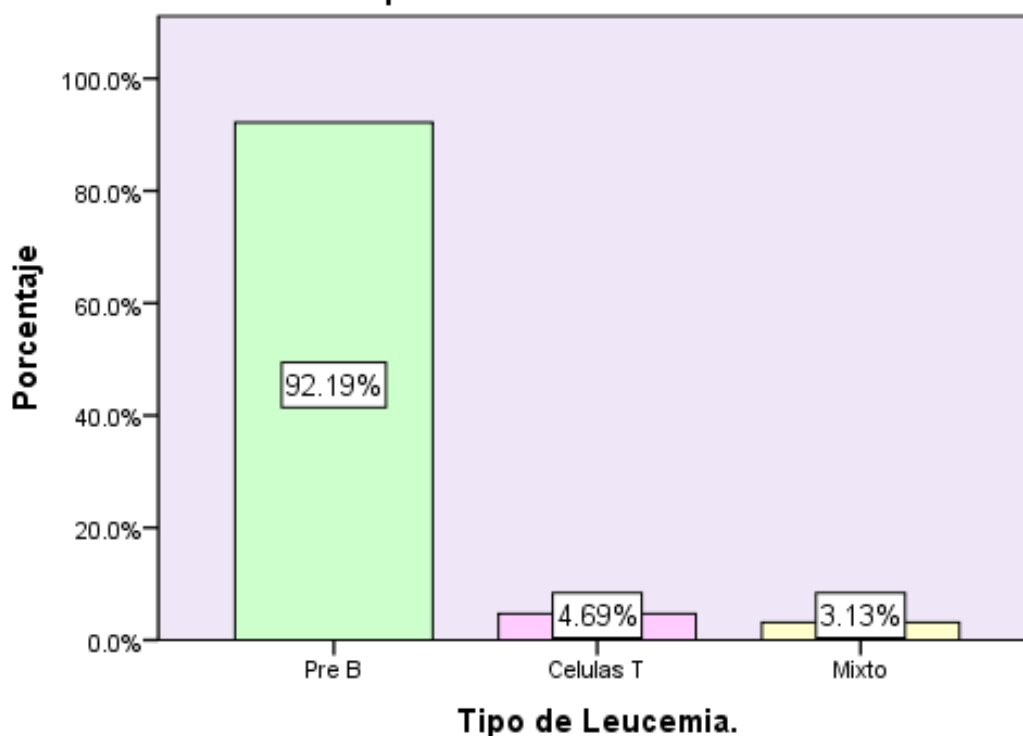
**Gráfico 5. Distribución de lugar de origen de los pacientes con LLA.**



Se agruparon a los pacientes de acuerdo a su lugar de origen, en donde se reportó un mayor porcentaje de casos provenientes de la Ciudad de México con 43% así como del Estado de México, que pudiera relacionarse con un mayor acceso a la atención médica de tercer nivel debido a la cercanía.

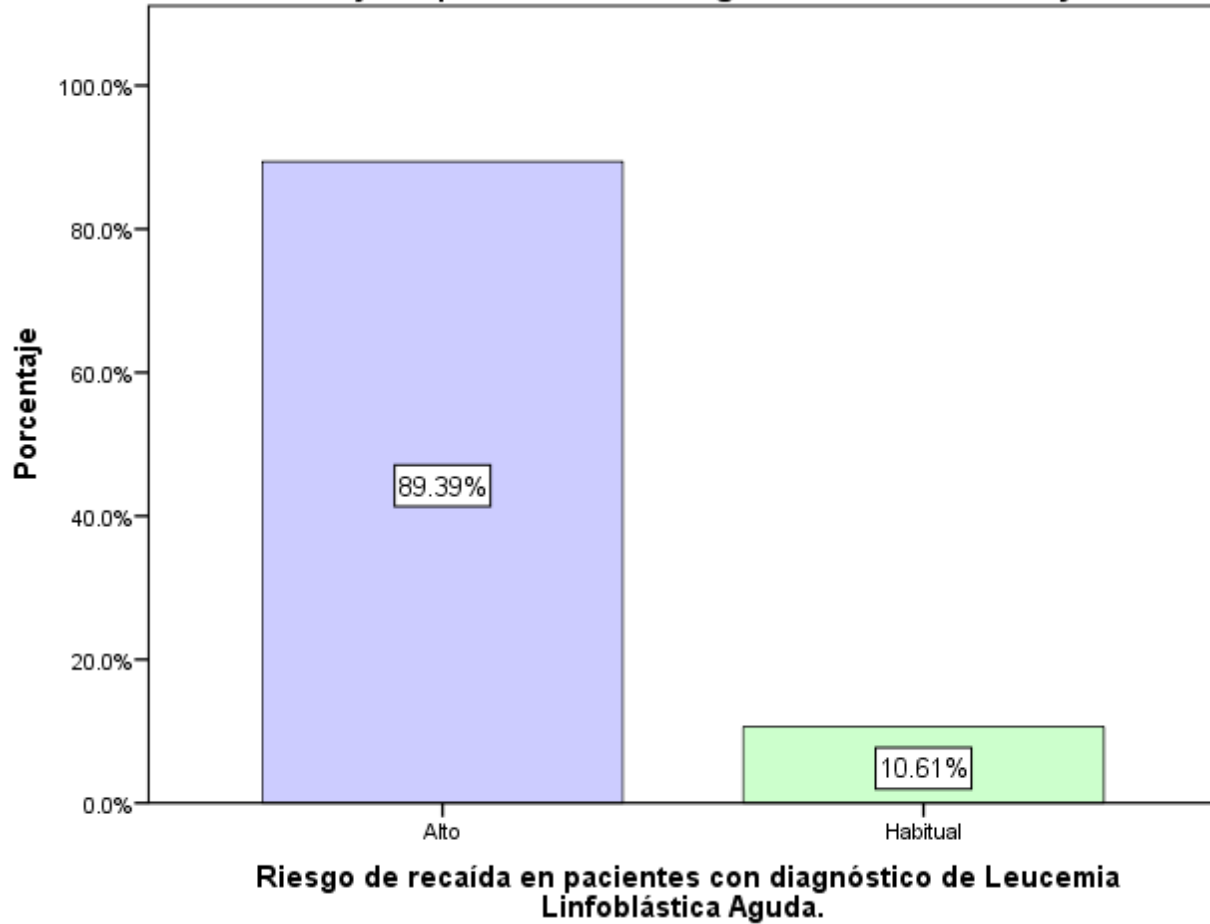
Tabla 17. Frecuencia y porcentaje de presentación de los diferentes tipos de Leucemias Linfoblásticas Agudas.					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Células Pre B	59	86.8	92.2	92.2
	Células T	3	4.4	4.7	96.9
	Mixto	2	2.9	3.1	100.0
	Total	64	94.1	100.0	
Perdidos		4	5.9		
Total		68	100.0		

**Gráfico 6. Distribución de los inmunofenotipos presentados en los pacientes con LLA.**



Se analizaron 64 pacientes, de los cuales el 92 % corresponde a leucemia tipo pre B, con un porcentaje menor para leucemia de células T con un 4.69% y el porcentaje restante se atribuye a casos con linaje mixto.

**Gráfico 7. Porcentaje de pacientes con riesgo de recaída habitual y alta.**



De los 68 pacientes analizados se encontró que el 86 % de los pacientes presentaron características para ser clasificados como de alto riesgo para recaída en comparación con el 14 % restante, que fue clasificado como habitual. No se encontraron casos con riesgo bajo o muy alto.

<b>Tabla 18. Factores de mal pronóstico presentados en pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda</b>			
<b>Variable</b>	<b>Presente (%)</b>	<b>Ausente (%)</b>	<b>Total (%)</b>
Hipodiploidía.	65.2	34.8	100
Edad ( <1 o >9 )	47%	53%	100
Masa mediastinal al diagnóstico	6.1	93.9	100
Cuenta Leucocitaria ( >50,000)	37.9	62.1	100
Mala respuesta a la ventana esteroidea	13.6	86.4	100
Recaída temprana	31.8	68.2	100

De forma aislada, se analizó **cada** factor de mal pronóstico en los pacientes incluidos en el estudio en base a su presencia o ausencia, en donde se encontró, que de **forma individual**, la Hipodiploidía se presentó en el 65 % de los casos, la edad menor a 1 año y mayor a 9 años en un 47 %, y la cuenta leucocitaria >50,000, en un 37.9 %, siendo los más comunes dentro del análisis.

<b>Tabla 19. Frecuencias genotípicas del SNP rs3758149 (GGH) en pacientes con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda.</b>						
		<b>Clasificación de genotipo</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Porcentaje válido</b>	<b>Porcentaje acumulado</b>
<b>Genotipos</b>	<b>TT</b>	Polimórfico	3	4.4	4.6	4.6
	<b>TC</b>	Heterocigoto	17	25.0	26.2	30.8
	<b>CC</b>	Normal	45	66.2	69.2	100.0
	<b>Total</b>		65	95.6	100.0	
<b>Perdidos</b>			3	4.4		
<b>Total</b>			68	100.0		

En la Tabla 19 se describen las frecuencias genotípicas del **SNP rs3758149** de los pacientes incluidos, se observa que el genotipo reportado como polimórfico (TT) se presenta solo en un 4.6% en comparación con el genotipo normal (CC), que se presentó en un 69.2 %.

**Tabla 20. Frecuencias genotípicas del SNP rs11545078 (GGH) en pacientes con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda.**

		Clasificación de genotipo	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
<b>Genotipos</b>	<b>TT</b>	Polimórfico	1	1.5	2.0	2.0
	<b>TC</b>	Heterocigoto	1	1.5	2.0	4.1
	<b>CC</b>	Normal	47	69.1	95.9	100.0
	<b>Total</b>		49	72.1	100.0	
<b>Perdidos</b>			19	27.9		
<b>Total</b>			68	100.0		

Para el SNP **rs11545078** del gen GGH se analizó la frecuencia y porcentaje de cada genotipo, en donde se observa que el genotipo clasificado como **polimórfico** es el menos frecuente y nuevamente el genotipo CC muestra predominancia dentro de los casos con un 95% válido, lo que nos muestra que en ambos SNPs analizados para el gen GGH, el genotipo más frecuente es el normal.

A continuación, se presenta la siguiente tabla en la cual se analiza la frecuencia genotípica para el SNP **rs1544105** del gen FPGS.

**Tabla 21. Frecuencias genotípicas del SNP rs1544105 (FPGS) en pacientes con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda.**

		Clasificación de genotipo.	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
<b>Genotipos</b>	<b>GG</b>	Polimórfico	16	23.5	26.2	26.2
	<b>AG</b>	Heterocigoto	31	45.6	50.8	77.0
	<b>AA</b>	Normal	14	20.6	23.0	100.0
	<b>Total</b>		61	89.7	100.0	
<b>Perdidos</b>			7	10.3		
<b>Total</b>			68	100.0		

De los casos analizados, el genotipo heterocigoto (GA) se reportó en un 50.8 % (porcentaje válido) con una distribución casi equitativa entre los genotipos restantes con un 26 % para el genotipo polimórfico (GG) y un 23 % para el genotipo normal (AA).



**Tabla 22. Frecuencias genotípicas del SNP rs1045642 (ABCB1) en pacientes con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda.**

		Clasificación de genotipos	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
<b>Genotipos</b>	<b>TT</b>	Polimórfico	18	26.5	34.0	34.0
	<b>CT</b>	Heterocigoto	23	33.8	43.4	77.4
	<b>CC</b>	Normal	12	17.6	22.6	100.0
	<b>Total</b>		53	77.9	100.0	
<b>Perdidos</b>			15	22.1		
<b>Total</b>			68	100.0		

Para el SNP **rs1045642** del gen **ABCB1**, se reportó una predominancia del genotipo heterocigoto (**CT**) con 43 %, sin embargo respecto a los genotipos restantes, no se aprecia una distribución con diferencias amplias (**TT = 26 %**, **CC 17.6 %**), en comparación con los genotipos de otros genes.

**Tabla 23. Resumen de los Genotipos más frecuentes en cada SNPs**

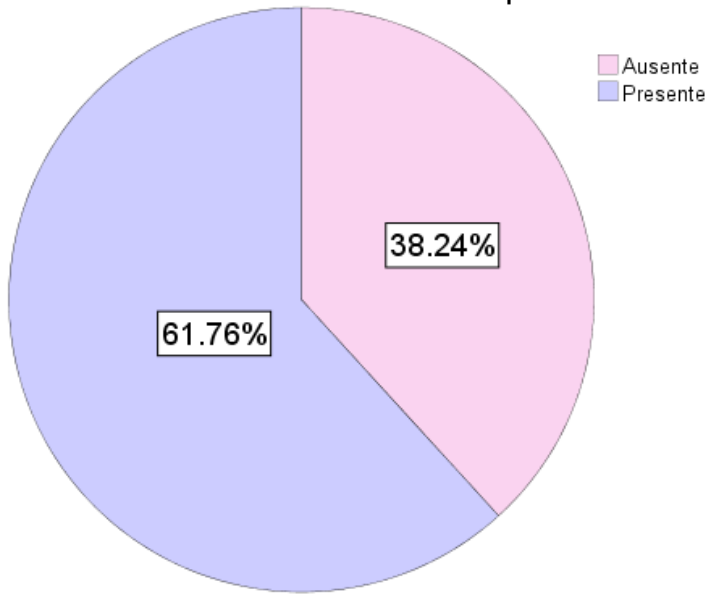
<b>Genotipo</b>	<b>SNPs</b>
CC ( Normal)	rs3758149 (GGH)
CC ( Normal)	rs11545078 (GGH)
GA ( Heterocigoto)	rs1544105 (FPGS)
CT ( Heterocigoto)	rs1045642 (ABCB1)

En la tabla anterior se presenta de forma resumida los genotipos más frecuentes encontrados para cada SNPs.

**Tabla 24. Presencia de mucositis en pacientes con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda.**

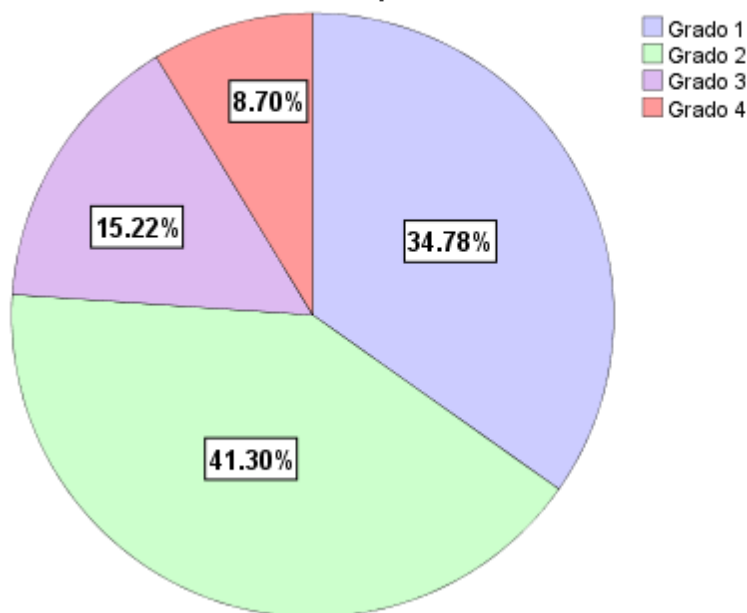
	Frecuencia	Porcentaje
<b>Ausente</b>	26	38.2
<b>Presente</b>	42	61.8
<b>Total</b>	68	100.0

**Gráfico 7. Presencia de mucositis en pacientes con LLA.**



De los 68 pacientes analizados, el 61.7 % presento mucositis en comparación con el 38. 2%, con una relación de 1.6:1. Los pacientes con mucositis fueron casi el doble que aquellos que no la presentaron.

**Gráfico 8. Presentación de los diferentes grados de mucositis en pacientes con LLA.**



Se analizó la frecuencia de presentación de los grados de mucositis en los 42 pacientes restudiados para esta variable. Se observa que el mayor porcentaje corresponde al grupo con Grado 2 41.3 % (N=19) seguido del grupo con Grado 1 con un 34.75%. (N= 16)

A continuación se presenta el número de pacientes a analizar para correlacionar la presencia de mucositis con los genotipos de los **SNPs rs3758149, rs11545078, rs1544105, rs1045642 y rs 2032582**:

<b>Tabla 25. Resumen de los casos analizados para relacionar los SNPs rs3758149, rs11545078, rs1544105, rs1045642 y rs 2032582 y la presencia o ausencia de mucositis.</b>						
Polimorfismo	Casos					
	Válidos		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
rs3758149 (GGH)	65	95.6%	3	4.4%	68	100.0%
rs11545078 (GGH)	49	72.1%	19	27.9%	68	100.0%
rs1544105 (FPGS )	61	89.7%	7	10.3%	68	100.0%
rs1045642 (ABCB1)	53	77.9%	15	22.1%	68	100.0%

Para el análisis de dichos datos y su correlación, fue necesario excluir de la N a los casos perdidos y así estudiar únicamente los casos válidos.

**Tabla 26. Relación entre los genotipos de los SNPs rs3758149, rs11545078, rs1544105, rs1045642 y rs 2032582 con los diferentes grados de mucositis y los casos sin mucositis.**

Polimorfismo	Genotipo	Grado de mucositis.				Total Casos c/ mucositis N (%)	Casos sin mucositis .	Total
		N (%)						
		I	II	III	IV			
GGH SNP rs3758149 N= 65	TT	2 ( 4.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>2 (4.5)</b>	1	3
	TC	4 (9)	6 (13.6)	1 (2.7)	0 (0)	<b>11 (25)</b>	6	17
	CC	9 (20)	12 (27)	6 (13.6)	4 (9)	<b>31 (70.4)</b>	14	45
	<b>Total</b>	15 (34)	18 (40)	7 (15.9)	4	<b>44 (100)</b>	21	65
GGH SNP rs11545078 N= 49	TT	0	0	0	0	<b>0</b>	1	1
	TC	0	0	0	0	<b>0</b>	1	1
	CC	13 (38.2)	15(39.5)	6 (15.7)	4 (10.5)	<b>38 (100)</b>	9	47
	<b>Total</b>	13 (38.2)	15 (39.5)	6 (15.7)	4 (10.5)	<b>38 (100)</b>	11	49
FPGS SNP rs1544105 N=61	GG	3 (7.3)	4 (9.7)	2 (4.8)	0	<b>9 (21.9)</b>	7	16
	AG	12(29.2)	8 (19.5)	1 (2.4)	4(9.7)	<b>25 (60.9)</b>	6	31
	AA	0 (0)	3 (7.3)	4 (9.7)	0	<b>7 (17)</b>	7	14
	<b>Total</b>	15 (36.5)	15 (36.5)	7 (17)	4 (9.7)	<b>41 (99.8)</b>	20	61
ABCB1 SNP rs1045642 N=53	TT	8 (19.5)	3 (7.3)	0 (0)	1 (2.4)	<b>12 (29.2)</b>	6	18
	CT	4 (9.7)	10 (24.3)	3 (7.3)	2 (4.8)	<b>19 (46.3)</b>	4	23
	CC	3 (7.3)	3 (7.3)	3 (7.3)	1 (2.4)	<b>10 (24.3)</b>	2	12
	<b>Total</b>	15 (36.5)	16 (39)	6(14.6)	4 (9.7)	<b>41 (99.8)</b>	12	53

Se relacionaron los genotipos de los diferentes SNPs con la presencia de mucositis y el grado de severidad a partir de los cuales se encontraron los siguientes resultados:

- Para el **SNP rs3758149** perteneciente al gen GGH, se reportó que el genotipo CC se relacionó a un mayor número de casos de mucositis en general, en comparación con el resto de los genotipos, de los cuales 9 (20%) y 12 (27%) pacientes de los 44 totales presentaron mucositis grado 1 y 2 respectivamente. La mucositis grado 4 fue presentada únicamente en pacientes portadores del genotipo CC. El genotipo TT fue el menos frecuente, con los 2 casos.
- En cuanto al **SNP rs11545078**, también perteneciente al gen GGH, se observó que únicamente los portadores del genotipo CC que corresponde al genotipo normal, presentaron mucositis, con una N de 38 pacientes con mucositis, ésta se reportó como grado 1 en 38.2 %.(N=13) y grado 2 en un 39.5% (N=15).
- Para el **SNP rs1544105** del gen FPGS, el genotipo AG, clasificado como heterocigoto se asoció a un mayor número de pacientes con mucositis en comparación con los demás genotipos, con 25 pacientes afectados, de los cuales 12 y 8 pacientes presentaron mucositis grado 1 y 2 respectivamente. El genotipo con menor número de casos asociado fue el **AA** asociado como genotipo normal.
- En cuanto al análisis para el **SNP rs1045642** del gen **ABCB1**, el mayor número de pacientes con mucositis (N= 19) presenta el genotipo heterocigoto CT. Se mantiene la predominancia vista en los SNPs previos con predominancia de los grados 1 y 2 de mucositis en un mayor número de pacientes. El genotipo CC presentó el menor número de pacientes con mucositis.

<b>Tabla 27. Relación entre la presencia de mucositis y dosis administrado de metotrexato en pacientes con LLA.</b>			
		<b>Dosis administrada</b>	
		<b>5gr/m2 (%*)</b>	<b>2gr/m2 (%*)</b>
<b>Presencia de mucositis</b>	<b>Presente</b>	12 (25)	12 (66)
	<b>Ausente</b>	36 (75)	6 ( 33)
<b>N = 66</b>			
<b>Total</b>		48 (100)	18 (100)
<b>Perdidos</b>			
<b>*Porcentaje válido.</b>			

En la tabla 27 se presenta la relación entre la presencia de mucositis y la dosis administrada de metotrexato, se muestra que la variable dosis actúa de forma independiente, al no encontrarse relacionada con un mayor número de casos de mucositis al administrarse a 5gr/m2, presentándose únicamente en el 25 %; por otro lado en el caso de la dosis a 2gr/m2, a pesar de contar con menor número de casos a quienes fue administrada esta dosis en comparación con la dosis de 5gr/m2( total 18 vs 48 ) , se presentó en un 66 % . Llama la atención que contrario a lo esperado, el grupo que recibió dosis de 5gr/m2 contiene al mayor número de pacientes que no manifestaron mucositis (75%).

<b>Tabla 28. Genotipos de los SNPs rs3758149, rs11545078, rs1544105, rs1045642 y rs 2032582 presentados en pacientes con recaída temprana.</b>						
	<b>Casos</b>					
	<b>Válidos</b>		<b>Perdidos</b>		<b>Total</b>	
	<b>N</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>N</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>N</b>	<b>Porcentaje</b>
GGH rs3758149	63	92.6%	5	7.4%	68	100.0%
GGH rs11545078	49	72.1%	19	27.9%	68	100.0%
FPGS rs1544105	59	86.8%	9	13.2%	68	100.0%
ABCB1 rs1045642	53	77.9%	15	22.1%	68	100.0%
ABCB1 rs2032582	63	92.6%	5	7.4%	68	100.0%

A continuación, se presentan los casos válidos con recaída temprana y genotificación, para su estudio.

Tabla 29. Relación entre los genotipos de los SNPs rs3758149, rs11545078, rs1544105, rs1045642 y rs 2032582 con la presencia de recaída temprana en pacientes con LLA.				
Polimorfismo	Genotipo	Recaída		Total
		Presente (%)	Ausente (%)	
<b>GGH SNP</b> <b>rs3758149</b> <b>N= 63</b>	<b>TT</b>	1 (5)	2 (4.6)	3
	<b>TC</b>	6 (30)	11(25)	17
	<b>CC</b>	13 (65)	30 (69)	43
	<b>Total</b>	20 (100)	43 (99)	63
<b>GGH SNP</b> <b>rs11545078</b> <b>N= 49</b>	<b>TT</b>	0	1 (3.1)	1
	<b>TC</b>	0	1 (3.1)	1
	<b>CC</b>	17 (100)	30 (93.7)	47
	<b>Total</b>	17 (100)	32 (99)	49
<b>FPGS SNP</b> <b>rs1544105</b> <b>N=59</b>	<b>GG</b>	4 (22)	11(26.8)	15
	<b>GA</b>	10 (55)	21(51)	31
	<b>AA</b>	4 (22)	9 (21.9)	13
	<b>Total</b>	18 (99)	41 (99.7)	59
<b>ABCB1 SNP</b> <b>rs1045642</b> <b>N=53</b>	<b>TT</b>	4 (21)	14 (41)	18
	<b>CT</b>	12 (63)	11 (32)	23
	<b>CC</b>	3 (15.7)	9 (26)	12
	<b>Total</b>	19 (99.7)	34 (99.4)	53

Se analizaron los genotipos de los SNPs rs3758149, rs11545078, rs1544105, rs1045642 con la presencia de recaída temprana con los siguientes resultados:

- El genotipo CC del **SNP rs3758149** presentó un mayor número de casos de recaída en comparación con los genotipos TC y TT, 13 pacientes de 63 estudiados para este SNP son portadores de este genotipo. Entre los pacientes con recaída, el genotipo CC fue el más frecuente, lo que determina también que el mayor número de pacientes **sin** recaída se asocian a este genotipo.
- Para el **SNP rs11545078** se analizaron 49 casos con el gen GGH y su relación con la presencia de recaída, de los cuales 17 pacientes presentaron el genotipo CC y recaída, casi la mitad de los que presenta el mismo genotipo en ausencia de recaída (30 casos).
- En el caso del **SNP rs1544105** se observa que el 55 % de los pacientes que presentaron recaída son portadores del genotipo heterocigoto, el resto de los genotipos presentaron porcentajes equivalentes de casos con recaída en un 22 %. En cuanto a los pacientes que no presentaron recaída igualmente fue el genotipo heterocigoto GA el que contó con un número de casos dentro de los pacientes analizados.
- En cuanto al **SNP rs 1045642 del gen ABCB1** se encuentra que el en el grupo de pacientes con recaída el 63 % corresponden al genotipo heterocigoto **CT**, el menor número de pacientes con recaída presentaron el genotipo polimórfico (**TT**). En el caso de los pacientes sin recaída, el 41 % corresponden al genotipo polimórfico.

## 9. DISCUSIÓN

Se analizaron un total de 68 pacientes pediátricos, con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda, entre 1- 18 años. Dentro de las **variables demográficas**, se analizó a la edad, el sexo del paciente así como su lugar de origen.

En cuanto a la **edad**, se analizaron en total 66 pacientes de los 68 reclutados, en donde se encontró que la media de edad de presentación fue de 8.5 años, con una moda de 3 años, contribuyendo en un 16 %. Edades como 10 y 11 años también presentaron alta frecuencia con un 14.7 y 10.3 % respectivamente. Lo demostrado en nuestro estudio concuerda con lo descrito en la literatura al describir una media de edad de presentación de 3 años. Por otro lado, se analizó la distribución de **sexo de los pacientes** incluidos en el estudio, donde, de una N = 68 pacientes, se encontró una predominancia del sexo masculino sobre el femenino incluso con una relación de 1.7:1, lo cual concuerda con descrito en el marco teórico.

Para la variable **lugar de origen**, los pacientes procedentes de la Ciudad de México contribuyeron en un 43%, seguido por el Estado de México en un 30.77 %, siendo el tercer lugar el estado de Michoacán con un 4.6 %. El resto de los estados presentó porcentajes similares entre ellos con un 3.08 %. Encontramos que el área metropolitana aportó un 73 % de los pacientes, esto podría ser secundario a una mayor facilidad para el acceso a la atención médica. Por otro lado dentro de la república, existen otras instituciones capacitadas para dar atención a este tipo de patologías por lo cual no es exclusivo su tratamiento en nuestro hospital, lo que explicaría la menor frecuencia de casos provenientes de otros estados del país.

Dentro de los **inmunofenotipos de leucemia**, se encontró que el 92 % corresponden a linaje de células Pre B, se muestra una clara predominancia sobre los subtipos restantes, que se encuentra en concordancia con lo expuesto al marco teórico. Los linajes de células T y mixtos presentaron una minoría de 4.69 y 3.13 % respectivamente. Para la variable de riesgo se encontró que de acuerdo a las características de los pacientes incluidos, el riesgo alto de recaída fue de forma clara predominante en un 86 %, con el resto de casos atribuidos a habitual sin encontrar casos de riesgo bajo o muy alto.

Los **factores de mal pronóstico** estudiados fueron Hipodiploidía, edad, presencia de masa mediastinal al diagnóstico, cuenta leucocitaria al diagnóstico > 50,000, mala respuesta a la ventana esteroidea así como la presencia de recaída temprana. Se analizó la presencia de cada uno de ellos tanto de forma individual como conjunta. De forma individual la Hipodiploidía se presentó en 65 % de los casos (N=43) siendo el más frecuente, seguido de la variable edad, que se presentó en un 47 % (N=31) y en tercer lugar la presencia de una cuenta leucocitaria al diagnóstico >50,000 en un 37.9 % (N=25). Por otro lado en conjunto la Hipodiploidía así como la cuenta leucocitaria mayor a 50,000 fueron los más frecuentes con un 42 % y un 25% respectivamente. El factor de riesgo menos frecuente fue la presencia de masa mediastinal al diagnóstico con un 4%. De lo descrito en la literatura se conoce que de forma tradicional la edad y la cuenta leucocitaria al diagnóstico siguen siendo los más importantes para la estratificación del riesgo, factores que estuvieron en segundo y tercer lugar en nuestra institución después de la Hipodiploidía.

Se determinó la frecuencia de los **genotipos** de los diferentes SNPs analizados, arrojando los siguientes resultados:

En el caso del SNP, para el **rs3758149** perteneciente al gen GGH, se mantiene la relación descrita, al presentarse con mayor frecuencia el genotipo común, al encontrarse en el 69 % de los casos, es decir en 45 de los 65 pacientes analizados para este SNP. En cuanto al genotipo polimórfico se presentó únicamente en 3 pacientes de los analizados.

En cuanto al genotipo clasificado como **polimórfico** para el SNP **rs11545078**, este es el menos frecuente y nuevamente el genotipo CC muestra predominancia dentro de los casos con un 95% válido. Con base a los resultados comentados respecto a los SNPs del gen GGH encontramos que en ambos casos, los genotipos determinados como normales es decir sin variantes alélicas descritas, se presentaron en un mayor número de

casos siendo los más frecuentes respectivamente para este gen dentro de la población de estudio.

Se analizaron un total de 61 pacientes para SNP **rs1544105** perteneciente al gen **FPGS**, de los cuales el genotipo heterocigoto se observó en 50.8 % (porcentaje válido) con una distribución casi equitativa entre los genotipos restantes con un 26 % para el genotipo polimórfico (GG) y un 23 % para el genotipo normal (AA). Lo anterior difiere de los resultados descritos previamente para el gen **GGH**, siendo en este caso el genotipo heterocigoto el más común.

Para el **SNP rs1045642 (ABCB1)** se contó con una muestra de 53 pacientes, cuyos genotipos presentaron la siguiente distribución: el genotipo **CC** reportado como normal se presentó en un 17.6 %, siendo el genotipo heterocigoto **CT** el más frecuente con un 23 %. De nuevo encontramos como en caso anterior, que a diferencia de lo esperado, en que el genotipo descrito como normal es el más frecuente, el genotipo heterocigoto muestra predominancia sobre el resto.

De los pacientes analizados para la variable **mucositis**, el 61.8 % presentó este efecto adverso con un total de 42 pacientes de los 68 reclutados, casi el doble (1.6:1) de aquel grupo que no presentó mucositis (N= 26). El grupo de pacientes afectados con mucositis fue clasificado de acuerdo al **grado de mucositis** presentado. A partir de los resultados se observa que el grupo con grado 2 fue el más grande con 41.3 % (N=19) seguido por el grupo con grado 1 con un 37.78 % (N=16).

Para el análisis de los casos con mucositis y presencia de un genotipo específico, se excluyeron los casos perdidos con el fin de estudiar únicamente aquellos casos en los que se contaba tanto la genotipificación como con el grado de mucositis.

La enzima  $\gamma$ -glutamil hidrolasa (**GGH**) hidroliza los **Pg-MTX** a metotrexato libre y algunos de sus polimorfismos se han asociado con diferencias en los niveles de **Pg-metotrexatos** en pacientes con **LLA** y con **artritis reumatoide**. **Dervieux** y colaboradores reportaron que los pacientes con genotipo homocigoto **TT** del SNP **rs3758149** tuvieron niveles de **Pg-metotrexatos** 4.8 veces superiores a los obtenidos en los pacientes con **artritis reumatoide** cuyo genotipo fue **CC** ó **CT** (95%, IC: 1.8-13.0, p=0.002), en este caso el genotipo se asoció con eventos adversos a bajas dosis de fármaco. En nuestro estudio se encontró que de los 65 pacientes analizados que contaban con datos acerca del grado de mucositis presentado así como la genotipificación, el **genotipo TT del SNP rs3758149**, no solo se fue el más frecuente en comparación con el resto de los genotipos como ya se mencionó sino que también fue el que se presentó con menor frecuencia y porcentaje dentro del grupo evaluado, afecto únicamente a 2 de los 65 pacientes estudiados y 44 pacientes con mucositis. Por el contrario el **genotipo CC** clasificado como común se asoció a un mayor número de pacientes con mucositis, en total 31 pacientes de los 44 con mucositis y 65 en total analizados, representando el 70 % de los casos con mucositis, dentro de los cuales, la mucositis grado 2 corresponde al 27 % y la mucositis grado 1 al 20 % que forman los grupos más predominantes. Los resultados anteriores describen que, a diferencia del estudio presentado por **Dervieux** y colaboradores, el genotipo más asociado a efectos adversos es el **CC** y no el genotipo polimórfico. Esto nos podría hablar de una diferencia entre el fondo genético de las poblaciones estudiadas.

En el estudio del **genotipo del rs11545078**, **Cheng** y colaboradores reportan una relación inversa entre la actividad de la enzima y la acumulación de **Pg-metotrexatos**, el análisis de SNPs asociados a la actividad en pacientes con **LLA** mostró que el **C452T (rs11545078)** se encontró en pacientes con baja actividad de **GGH** en células de linaje **T** y de linaje **B** hiperdiploides. Así mismo, este estudio mostró que el modelamiento de la proteína mostró que el cambio de aminoácido (**T127I**) afecta la conformación molecular y esto altera la afinidad por los **Pg-metotrexatos** de cadena larga (de 4-7) pero no con los de cadena corta (de 1-3). De hecho la eficiencia catalítica se reduce en un 67%. El análisis concluye que este SNP está asociado con la actividad catalítica de la enzima y por ende en la acumulación de **Pg-metotrexatos** de cadena larga, factor asociado a la eficacia/toxicidad del tratamiento quimioterapéutico. Los resultados obtenidos a través de nuestro estudio indican que la totalidad de los casos analizados para ese genotipo con mucositis (N= 38) fue portadora del genotipo **CC** reportado como normal en la población, dentro de este grupo se mantiene la predominancia de un mayor número de pacientes con mucositis grado 2 con un 39.5 % (N= 15) y grado 1 en un 38,2% (N= 13). No se puede discutir esto ya que hubo pocos individuos con el otro genotipo, el 97 % eran **CC**.

Para el **rs1544105** perteneciente al gen **FPGS**, se encontró de que 61 pacientes analizados para la presencia de mucositis y determinación de genotipo, el **genotipo heterocigoto GA** mostró predominancia sobre los otros genotipos que corresponden a **GG** (polimórfico) y **AA** (normal), el genotipo **GA** se reportó presente en un 60 % de los casos con mucositis, siendo también el más frecuente como se describió anteriormente. A diferencia de



SNPs y genotipos anteriores, se observan dos peculiaridades en este caso: 1) la predominancia de un genotipo heterocigoto sobre el resto, 2) el mayor número de pacientes afectados por mucositis se encuentran clasificados como grado 1, con un 29 % (N=12) en comparación a el grupo con mucositis grado 2 con 36.5 %. Los únicos 4 pacientes afectados con mucositis grado 4 son portadores del genotipo GA.

En la literatura descrita anteriormente, se indica que los genotipos AA / AG pueden ser considerados como de riesgo mientras que el genotipo GG es de bajo riesgo, sin embargo de acuerdo a los resultados obtenidos, se encuentra que el genotipo AG se presentó en un mayor número de pacientes afectados, lo cual difiere de lo mencionado en el marco teórico y por otro lado en cuanto al genotipo AA, este presentó un menor número de casos (N=7) de los cuales 3 fueron clasificados como grado 2 y 4 como grado uno, con lo cual dicho resultado concuerda con el enunciado en el cual se especifica que el genotipo AA pudiera ser considerado de bajo riesgo para la presencia de efectos adversos.

En el análisis de los genotipos **rs1045642** del gen **ABCB1** se encontró que el mayor número de pacientes presentó el genotipo heterocigoto CT, llama la atención que el mayor número de casos de pacientes con mucositis de bajo grado pertenecieron al genotipo común sin embargo el número de casos con genotipo común y polimórfico no es predominante de forma que se pueda establecer una relación con su presencia y alto o bajo riesgo de desarrollar mucositis.

Se buscó relacionar la presencia de mucositis a la dosis administrada ya fuera de 5gr/m<sup>2</sup> o 2gr/m<sup>2</sup> en donde no se encontró una predominancia marcada en cuanto a la presencia de mucositis de acuerdo a la dosis, ya que el número de casos fueron iguales en los pacientes que recibieron las diferentes dosis.

Al realizar el análisis de los casos que presentaron mucositis dentro del grupo de pacientes que recibieron dosis de metotrexato a 5gr/m<sup>2</sup> se encontró que el 75 % de los pacientes no presentaron mucositis, dicho resultado se contraponen a lo esperado en referencia a que a mayor dosis mayor riesgo de citotoxicidad y por ende mucositis. Para los pacientes que recibieron dosis de 2gr/m<sup>2</sup>, los casos reportados con mucositis fueron el doble en comparación con quienes no desarrollaron esta complicación, se requiere un estudio de farmacocinética para determinar si el tiempo de residencia del fármaco (eliminación más lenta) en los pacientes está correlacionado con el desarrollo de mucositis.

Se buscó una relación entre la presencia de los polimorfismos de los diferentes genes participantes en el metabolismo del metotrexato, así como la frecuencia de presentación entre los grupos de pacientes clasificados en dos grupos de acuerdo a la presencia de recaída. En el caso del SNP **rs3758149** se encontró que el **genotipo CC** catalogado como el **genotipo común** en la población fue el más frecuente, tanto para el grupo con recaída como para el grupo sin recaída. Al analizar este genotipo de forma individual de acuerdo a la presencia o ausencia de recaída, se encontró que en ambos grupos, fue el genotipo predominante con un 65 y 69 % respectivamente en cada grupo, lo que concuerda ya que es el genotipo común en la población, se requiere más información y estudio sobre otras variables que pudieran influir en este resultado ya que la presencia de este genotipo no parece aportar o restar algún riesgo sobre el desarrollo de recaída en los pacientes afectados. Para el resto de los genotipos, el rasgo polimórfico TT se presentó únicamente en un 5 % de los pacientes afectados y en un 4.6 % de los pacientes no afectados, no parece tener influencia alguna sobre el desarrollo de recaída.

Igualmente para el **rs 11545078** del gen **GGH** se observó que el **genotipo CC común** fue el que se presentó en un mayor número de casos y específicamente para el grupo de pacientes con recaída representó el 100 %, siendo asimismo predominante en el grupo de pacientes sin recaída, por lo cual no se encuentra relación directa entre la presencia de este u otro genotipo con la presencia de recaída, ya sea como factor protector o de riesgo, lo cual plantea la necesidad de buscar otras variables asociadas a este resultado.

Se analizaron un total de 59 casos para el **rs 1544105** del gen **FPGS** y la presencia de recaída en donde se encontró que el 55 % de los casos del grupo con **recaída** presentan el **genotipo heterocigoto**; aunque este resultado pudiera catalogar a dicho genotipo como de riesgo para la presencia de recaída, en el grupo no afectado por recaída fue, de la misma forma, el genotipo más común dentro de la población estudiada. Para el resto de genotipos tanto el **común** como el **polimórfico** presentaron un igual número de pacientes afectados. De acuerdo a lo descrito en el marco teórico donde se describe que el polimorfismo rs1544105 (TTTAC **A/G** TCGAA) puede ser un marcador de predisposición a una pobre respuesta al tratamiento contra la artritis reumatoide en los genotipos AA/AG pueden ser considerados como de riesgo mientras que el genotipo GG es de bajo riesgo (OR= 3.47, 95% IC: 1.19-10.1236), con base a lo encontrado a nuestro estudio no se puede establecer tal relación debido a la falta de un análisis estadístico propio así como el hecho de que en ambos grupos, el **genotipo**

**heterocigoto** se presentó de forma predominante.

Para el **rs 1045642 del gen ABCB1** se encontró a partir del análisis de 53 casos, de los cuales 34 casos no presentaron recaída en comparación con los 19 restantes. De aquellos con recaída el mayor número es portador del **genotipo heterocigoto CT** con un 63 % (N=12), en cuanto al grupo sin recaída el mayor número de pacientes presentó el **genotipo polimórfico TT** en un 41 % (N= 14) lo anterior corresponde a lo descrito en el marco teórico en donde se describe que el genotipo TT se asocia a un incremento en la respuesta farmacológica a la quimioterapia cuyo efecto sería la un menor riesgo de recaída entre otras variables a estudiar.

## 10. CONCLUSIONES

1. Los pacientes enrolados al estudio fueron principalmente del área metropolitana (Ciudad de México y Estado de México) con un 73%. La LLA se presentó predominante en el sexo masculino, con una relación niño/niña de 1.7:1, similar al dato reportado en la literatura mundial de 2:1.
2. La media de edad fue de 3.5 años, con predominancia el inmunofenotipo de linaje pre-B (92%) y clasificación de LLA de alto riesgo (86%). La hipodiploidia y la edad (65 y 47%, respectivamente) fueron los principales factores de mal pronóstico.
3. Los genotipos más frecuentes de los SNPs analizados fueron: genotipo común CC para el SNP rs3758149; genotipo común CC para el rs1154078. En el SNP rs1544105 el genotipo heterocigoto GA tuvo predominancia mientras que para el rs1045642 fue el heterocigoto CT.
4. Un 61% de los pacientes presentaron mucositis, el 75% de los pacientes con esta reacción adversa fueron clasificados como grado 1/2.
5. El análisis realizado para asociación de variantes polimórficas con el desarrollo de mucositis o de recaída no mostró evidencia de correlación significativa, sin embargo, se observaron tendencias en algunos polimorfismos con el desarrollo de estos eventos adversos.

## 11. PERSPECTIVAS.

El presente estudio indicó que algunos polimorfismos pueden estar asociados a recaída o desarrollo de mucositis, se recomienda ampliar este estudio para captar un mayor número de pacientes y de esta manera realizar un análisis estadístico más profundo y apropiado que corrobore estos resultados. Así mismo, establecer asociaciones con intervalos de confianza adecuados que permitan establecer relaciones entre diversos factores externos y los propios genotipos, las conclusiones de este ensayo serían de utilidad para realizar predicciones sobre el riesgo de cada paciente para presentar mucositis o tener una recaída en esta neoplasia.

Nuestro estudio tuvo un carácter observacional, sin embargo, invita a profundizar sobre las posibles asociaciones y sentar bases para iniciar más estudios clínicos, bajo la misma línea de investigación, desde un punto de vista estadístico que permita mejorar la terapia de un paciente y ampliar el uso de herramientas de derivadas de la farmacogenómica en el tratamiento. Los resultados de estos proyectos derivarían en una medicina más personalizada, con menos efectos adversos y menor costo asistencial.

## 12. REFERENCIAS.

1. Rivera-Lun, R, & Cárdenas Cardos, R. (2015, junio). El niño de población abierta con cáncer en México. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/analesmedicos>.
2. American Cancer Society. Datos y Estadísticas sobre el Cáncer entre los Hispanos/Latinos de 2015-2017. Atlanta: American Cancer Society; 2015.
3. Rendón – Macías ME, Reyes – Zepeda NC, Villasis- Keever MA, Serrano Meneses, Escamilla Núñez A. Tendencia mundial de la supervivencia en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda. Revisión de las últimas cuatro décadas. *Bol Med Hosp Infant Mex* [Internet]. 2012[ Citado en 2017], 69 (6): 153-163.
4. Dirección General de Información en Salud (DGIS), plataforma de cubos dinámicos en salud <http://www.dgis.salud.gob.mx/cubos/>
5. Miranda – Lora AL, Klünder-Klünder. Ruíz –Cano J, Reyes- López A, Dorantes – Acosta E, Zapata- Tarrés M. Estructura hospitalaria y su relación con la sobrevida de pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda. *Bol Med Hosp Infant Mex* [Internet]. 2012[Citado en 2017], 69 (3): 205-211.
6. Klünder-Klünder M, Miranda-Lora AL, Dorantes-Acosta E, Zapata-Tarrés E, et. al. Frecuencia de abandono del tratamiento en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda. *Bol Med Hosp Infant Mex* [Internet]. 2012[Citado en 2017], 69 (3): 226-232.
7. Protocolo de la Atención para Leucemia Linfoblástica. Guía Clínica y Esquema de Tratamiento. Página del Seguro Popular en su Programa contra Cáncer en la Infancia y Adolescencia <http://www.cancerinfantil.gob.mx/recursos/LEUCEMIA.pdf>
8. Rivera RL. Leucemia aguda Linfoblástica de alto riesgo. En Rivero RL, editor. Hemato-oncología pediátrica, Principios Generales. México: Editores de Textos Mexicanos; 2006. p. 175-189.
9. Villasís Keever MA, Arias Gómez J, Escamilla Núñez A, Bonilla Rojas J. Metaanálisis sobre los factores pronósticos con la mortalidad en niños con leucemia linfoblástica aguda. *Bol Med Hosp Infant Mex* [Internet]. 2012[Citado en 2017], 69 (3): 226-232.
10. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandring G, Galton DAG, Gralnick HR, Sultan C. "Proposals for the classification of the acute leukemias: French-American-British (FAB) cooperative group". *Br. J. Haematol.* **33**: 451, 1976.
11. Rivera Luna R. Editor. Protocolos Técnicos Cáncer en Niños. Consejo Nacional para la prevención y el tratamiento del cáncer en la infancia y la adolescencia. 374 pp. Impreso en México ISBN 978-607- 7817-10-9, 2010.
12. Kastrup IB, Worm J, Ralfkiaer E, Hokland P, Guldborg P, Grønbaek K. Genetic and epigenetic alterations of the reduced folate carrier in untreated diffuse large B-cell lymphoma. *Eur J Haematol.* 2008; **80**(1):61-66
13. Fabre I, Fabre G, Goldman ID. Polyglutamylamyl, an important element in methotrexate cytotoxicity and selectivity 14. in tumor versus murine granulocytic progenitor cells in vitro. *Cancer Res* 1984; **44**:3190 .
14. Rhee MS, Wang Y, Nair MG, Galivan J. Acquisition of resistance to antifolates caused by enhanced  $\square$ - glutamyl hydrolase activity. *Cancer Res* 1993; **53**:2227 – 2230.
15. Genestier L, Paillot R, Quemeneur L, Izeradjene K, Revillard JP. Mechanisms of action of methotrexate. *Immunopharmacology.* 2000; **47**:247-257.
16. Chiusolo P, Reddiconto G, Casorelli I, Laurenti L, Sora F, Mele L, Annino L, Leone G, Sica S. Preponderance of methylenetetrahydrofolate reductase C677T homozygosity among leukemia patients intolerant to methotrexate. *Ann. Oncol.* 2002; **13**: 1915-1918.
17. Chiusolo P, Reddiconto G, Farina G, Mannocci A, Fiorini A, Palladino M, La Torre G, Fianchi L, Sora F, Laurenti L, Leone G, Sica S. MTHFR polymorphisms' influence on outcome and toxicity in acute lymphoblastic leukemia patients. *Leuk. Res.*, 2007, **31**: 1669-1674.
18. Shimasaki N, Mori T, Torii C, Sato R, Shimada H, Tanigawara Y, Kosaki K, Takahashi T. Influence of MTHFR and RFC1 polymorphisms on toxicities during maintenance chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia or lymphoma. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 2008; **30**: 347-352.
19. Fisher MC, Cronstein BN. Metaanalysis of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Polymorphisms affecting methotrexate toxicity. *J. Rheumatol.*, 2009, **36**(3): 539-545.
20. Gemmati D, Ongaro A, Tognazzo S, Catozzi L, Federici F, Mauro E, Della Porta M, Campioni D, Bardi A, Gilli G, Pellati A, Caruso A, Scapoli GL, De Mattei M. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C gene variants in adult non-Hodgkin's lymphoma patients: association with toxicity and survival. *Haematologica* 2007; **92**: 478-485.
21. Matherly LH, Taub JW, Ravindranath Y, Proefke SA, Wong SC, Gimotty P, Buck S, Wright JE, Rosowsky A. Elevated dihydrofolate reductase and impaired methotrexate transport as elements in methotrexate resistance in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 1995, **85**: 500-509.
22. Dulucq S, St-Onge G, Gagne V, Ansari M, Sinnett D, Labuda D, et al. DNA variants in the dihydrofolate reductase gene and outcome in childhood ALL. *Blood* 2008; **111**:3692–3700.
23. Patino-García A, Zalacain M, Marrodan L, San-Julian M, Sierrasesumaga L. Methotrexate in pediatric osteosarcoma: response and toxicity in relation to genetic polymorphisms and dihydrofolate reductase and reduced folate carrier 1 expression. *J. Pediatr.* 2009, **154**: 688-693.

24. Laverdière C, Chiasson S, Costea I, Moghrabi A, Krajinovic M. Polymorphism G80A in the reduced folate carrier gene and its relationship to methotrexate plasma levels and outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002; 100(10):3832-4.
25. Gregers J, Christensen J, Dalhoff K, Lausen B, Schroeder H, Rosthøj S, Carlsen N, Schmiegelow J, Peterson C. The association of reduced folate carrier 80GA polymorphism to outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia interacts with chromosome 21 copy number. *Blood*, 2010; **115**: 4671- 4677
26. Yoon SA, Choi JR, Kim JO, Shin JY, Zhang X, Kang JH. Influence of Reduced Folate Carrier and Dihydrofolate Reductase Genes on Methotrexate-Induced Cytotoxicity. *Cancer Res Treat.* 2010; **42**:163-171.
27. Whetstone JR, Gifford AJ, Witt T. Single nucleotide polymorphisms in the human reduced folate carrier: characterization of a high-frequency G/A variant at position 80 and transport properties of the His(27) and Arg(27)carriers. *Clinical Cancer Research* 2001; **7**:3416–3422.
28. Van der Straaten RJ, Wessels JA, de Vries-Bouwstra JK, Goekoop-Ruiterman YP, Allaart CF, Bogaartz J, Tiller M, Huizinga TW, Guchelaar HJ. Exploratory analysis of four polymorphisms in human GGH and FPGS genes and their effect in methotrexate-treated rheumatoid arthritis patients. *Pharmacogenomics.* 2007; **8**:141-50.
29. Cheng Q, Wu B, Kager L, Panetta JC, Zheng J, Pui CH, Relling MV, Evans WE. A substrate specific functional polymorphism of human gamma-glutamyl hydrolase alters catalytic activity and methotrexate polyglutamate accumulation in acute lymphoblastic leukaemia cells. *Pharmacogenetics.* 2004; **14**:557-567.
30. Dervieux T, Kremer J, Lein DO, Capps R, Barham R, Meyer G, Smith K, Caldwell J, Furst DE. Contribution of common polymorphisms in reduced folate carrier and gamma-glutamylhydrolase to methotrexate polyglutamate levels in patients with rheumatoid arthritis. *Pharmacogenetics.* 2004; **14**:733-9.
31. Rots MG, Pieters R, Peters GJ, Noordhuis P, van Zantwijk CH, Kaspers GJ, Hählen K, Creutzig U, Veerman AJ, Jansen G. Basal expression of the multidrug resistance gene 1 (MDR-1) is associated with the TT genotype at the polymorphic site C3435T in mammary and ovarian carcinoma cell lines. *Cancer Lett.* 2002; **185**:79-85
32. Sanghani SP, Sanghani PC, Moran RG. Identification of three key active site residues in the C- terminal domain of human recombinant folylpoly-gamma-glutamate synthetase by site-directed mutagenesis. *J Biol Chem.* 1999 Sep 17; 274(38):27018-27.
33. Liani E, Rothen L, Bunni MA, Smith CA, Jansen G, Assaraf YG. Loss of folylpoly-gamma-glutamate synthetase activity is a dominant mechanism of resistance to polyglutamylation-dependent novel antifolates in multiple human leukemia sublines. *Int J Cancer.* 2003; **103**:587-99.
34. Kafka A, Sauer G, Jaeger C, Grundmann R, Kreienberg R, Zeillinger R, Deissler H. Polymorphism C3435T of the MDR-1 gene predicts response to preoperative chemotherapy in locally advanced breast cancer. *Int J Oncol.* 2003; **22**:1117-21.
35. Kishi S, Yang W, Boureau B, Morand S, Das S, Chen P, Cook EH, Rosner GL, Schuetz E, Pui CH, Relling MV. Effects of prednisone and genetic polymorphisms on etoposide disposition in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2004; **103**:67-72.
36. Siddiqui A, Kerb R, Weale ME, Brinkmann U, Smith A, Goldstein DB, Wood NW, Sisodiya SM. Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transporter gene ABCB1. *N Engl J Med.* 2003; **348**:1442-1448.
37. Leal-Ugarte E, Gutiérrez-Angulo M, Macías-Gómez NM, Peralta-Leal V, Durán-González J, De La Luz Ayala-Madrigal M, Partida-Pérez M, Barros-Núñez P, Ruiz-Díaz D, Moreno-Ortiz JM, Peregrina-Sandoval J, Meza-Espinoza JP. MDR1 C3435T polymorphism in Mexican children with acute lymphoblastic leukemia and in healthy individuals. *Hum Biol.* 2008; **80**:449-455.
38. Kondo C, Suzuki H, Itoda M, Ozawa S, Sawada J, Kobayashi D, Ieiri I, Mine K, Ohtsubo K, Sugiyama Y. Functional analysis of SNPs variants of BCRP/ABCG2. *Pharm Res.* 2004; **21**:1895-1903.
39. Ishikawa T, Nakagawa H. Human ABC transporter ABCG2 in cancer chemotherapy and pharmacogenomics. *J Exp Ther Oncol.* 2009; **8**:5-24.
40. Imai, Y., Nakane, M., Kage, K., Tsukahara, S., Ishikawa, E., Tsuruo, T. C421A polymorphism in the human breast cancer resistance protein gene is associated with low expression of Q141K protein and low-level drug resistance. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2002; **1**: 611–616.
41. Hu LL, Wang XX, Chen X, Chang J, Li C, Zhang Y, Yang J, Jiang W, Zhuang SM. BCRP gene polymorphisms are associated with susceptibility and survival of diffuse large B-cell lymphoma. *Carcinogenesis.* 2007; **28**:1740-1744.
42. Borges de Lima Dantas J, Botelho Martins G, Ramos Lima H., Pereira Carrera M, De Almeida Reis SR, Peixoto Medrado A. Immunopathogenesis of oral mucositis induced by chemotherapy and /or radiotherapy: state of art. *Braz Journ of Med and Hum Health [Internet].* 2017 [ citado en 2017 ], 5 (2); 63-74.
43. De la Teja – Ángeles E, Niembro- Zermeño A, Durán Gutiérrez LA, Mucositis bucal. *Acta Pediatr Mex*, 2011; 32 (84) : 255-256.
44. Maiguma T, Hayashi Y, Ueshima S, Kaji H, Egawa T, et. al, Relationship between oral mucositis and high-dose methotrexate therapy in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2008 Nov;46(11):584-90.
45. Sauer G, Kafka A, Grundmann R, Kreienberg R, Zeillinger R, Deissler H. Basal expression of the multidrug resistance gene 1 (MDR-1) is associated with the TT genotype at the polymorphic site C3435T in mammary and ovarian carcinoma cell lines. *Cancer Lett.* 2002; **185**:79-85.